

**Quantitative Analyse des Na⁺-, K⁺- und Li⁺-Transportes
sowie der Glykosidrezeptoren menschlicher Erythrocyten
bei einigen Erkrankungen**

Ursula Schmidinger-Klein

*Diss.
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik I der
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. G. Riecker

Quantitative Analyse des Na^+ -, K^+ - und Li^+ -Transportes
sowie der Glykosidrezeptoren menschlicher Erythrocyten
bei einigen Erkrankungen

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ursula Schmidinger-Klein

aus

München

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. E. Erdmann

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Riecker

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29.1.85

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	2
1.1. Elektrolyttransportmechanismen an der menschlichen Erythrocytenmembran	2
1.1.1. Die g-Strophantin-abhängige Na^+/K^+ -Pumpe	2
1.1.2. Ethacrynsäure- und Furosemid-sensible Ionenfluxe	5
1.1.2.1. Aktiver Transport oder Austauschdiffusion	5
1.1.2.2. Der Na^+-K^+ -Cotransport	9
1.1.3. Das Na^+-K^+ -Gegentransportsystem	11
1.1.4. Transport von Na^+ bzw. Li^+ über ein Anionenaustauschsystem	13
1.2. Elektrolyttransportstörungen bei Hypertonie	16
1.2.1. Na^+ -Gehalt, Na^+ -Permeabilität und Na^+/K^+ -Pumpe an Erythrocyten von Hochdruckpatienten	16
1.2.2. Na^+/K^+ -Fluxquotient und Na^+-K^+ -Cotransport bei Hypertonie	17
1.2.3. Das Na^+-Li^+ -Gegentransportsystem bei Hochdruckerkrankungen	18
1.2.4. Das $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Austauschsystem an der Gefäßmuskelzelle	19

	Seite
1.3. Elektrolytttransportstörungen als diskutierter Pathomechanismus bei verschiedenen Erkrankungen	20
Hereditärer Sphärocytose und Stomatocytose,	20
Thalassämie,	20
Rh _{null} Erythrocyten,	20
Hypokaliämie,	21
Bartter-Syndrom,	22
Lebererkrankungen und	22
"Sick-Cell-Syndrome"	23
1.4. Ziele dieser Arbeit	24
2. METHODIK	25
2.1. Versuchspersonen	25
2.2. Bestimmung des Na ⁺ /K ⁺ -Fluxverhältnisses an Erythrocyten nach Garay et al. (28)	34
2.3. Messung des Na ⁺ -Li ⁺ -Gegentransports an Humanerythrocyten nach der Methode von Canessa et al. (5)	35
2.4. Bestimmung der Glykosidrezeptoren an menschlichen Erythrocyten mit ³ H-g-Strophanthin nach der Methode von Erdmann et al. (20)	37

	Seite
2.5. Bestimmung des extrazellulären Rauman- teils im Hämatokrit mit ^{14}C -Inulin	40
2.6. Statistik	42
3. ERGEBNISSE	43
3.1. Na^+/K^+ -Fluxquotient	43
3.1.1. Kationenkonzentration zu Anfang und nach Aufladen mit Natrium in den Erythrocyten	43
3.1.2. Na^+ - und K^+ -Nettofluxe an den Erythro- cyten normotensiver Versuchspersonen	46
3.1.3. Netto- Na^+ -Efflux, Netto- K^+ -Influx und Na^+/K^+ -Fluxverhältnis in verschiedenen Gruppen	48
3.1.3.1. Netto- Na^+ -Efflux	49
3.1.3.2. Netto- K^+ -Influx	50
3.1.3.3. Na^+/K^+ -Fluxquotient	52
3.1.4. Na^+ - und K^+ -Nettoflux und Na^+/K^+ -Flux- quotient in Abhängigkeit vom arteriellen Mitteldruck	55
3.1.5. Untersuchung des Einflusses von Medika- menten und Elektrolytstörungen auf die Versuchsmethode	59
3.1.6. Untersuchung der Wirkung eines Diureti- kums auf die Versuchsmethode an einem gesunden Probanden	63
3.1.7. Bestimmung der intraindividuellen Streuung	63

	Seite
3.2. Na ⁺ -Li ⁺ -Gegentransport	65
3.2.1. Kationenkonzentration in den Erythrocyten zu Anfang und nach Aufladen mit Lithium	65
3.2.2. Li ⁺ -Efflux im Na ⁺ -reichen und Na ⁺ -freien Medium und Na ⁺ -Li ⁺ -Gegentransport	67
3.2.3. Untersuchung des Einflusses von Medikamenten und Elektrolytstörungen auf die Bestimmung des Na ⁺ -Li ⁺ -Gegentransports	77
3.2.4. Überprüfung der Wirkung eines Diuretikums auf die Versuchsmethode an einem gesunden Probanden	81
3.2.5. Die intraindividuelle Streuung der Versuchsmethode	84
3.3. Glykosidbindungsstellen	87
3.3.1. Anzahl der Glykosidbindungsstellen in den untersuchten Kollektiven	87
3.3.2. Beeinflussung der ³ H-Oubainbindungsstellen bei Hypertoniepatienten durch Diuretika	90
3.3.3. Bestimmung der ³ H-Ouabainbindungsstellen an den Erythrocyten eines gesunden Probanden vor und nach Einnahme eines Diuretikums	92
3.3.4. Intraindividuelle Streuung bei der Bestimmung der Glykosidbindungsstellen an Humanerythrocyten nach der Methode von E. Erdmann et al. (20)	93

Quantitative Analyse des Na⁺-, K⁺- und Li⁺- Transportes
sowie der Glykosidrezeptoren menschlicher Erythrocyten
bei einigen Erkrankungen

1. EINLEITUNG

1.1. Elektrolyttransportmechanismen an der menschlichen Erythrocytenmembran

An der menschlichen Erythrocytenmembran sind bisher verschiedene Elektrolyttransportsysteme beschrieben worden, die sich in ihrer Empfindlichkeit gegenüber Pharmaka sowie in ihrem Transportmechanismus unterscheiden. Als aktiver Transport wird die entgegen dem elektrochemischen Gradienten gerichtete, energieabhängige Ionenbewegung bezeichnet. Die in Richtung des elektrochemischen Gradienten verlaufende Ionenbewegung nennt man passiven Transport (Ussing, (61)). Während bei diesen beiden Formen Nettoionenfluxe zustande kommen, werden bei der sogenannten Austauschdiffusion Ionen über die Membran transportiert, ohne einen Nettofluß zu erzeugen (z. B. Na^+ gegen Na^+ oder K^+ gegen K^+), (42, 61).

1.1.1. Die g- Strophantin-abhängige Na^+/K^+ -Pumpe

Das bisher wohl am eingehendsten charakterisierte Elektrolyttransportsystem stellt die Na^+/K^+ -Pumpe dar. Unter physiologischen Bedingungen wird durch die $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase (58) Na^+ aus und gleichzeitig K^+ in die roten Blutkörperchen befördert. Die für diesen aktiven Transport benötigte Energie wird durch die auf der Innenseite der Zellmembran ablaufende Hydrolyse von ATP in ADP und P bereitgestellt. Dabei werden nach Untersuchungen von

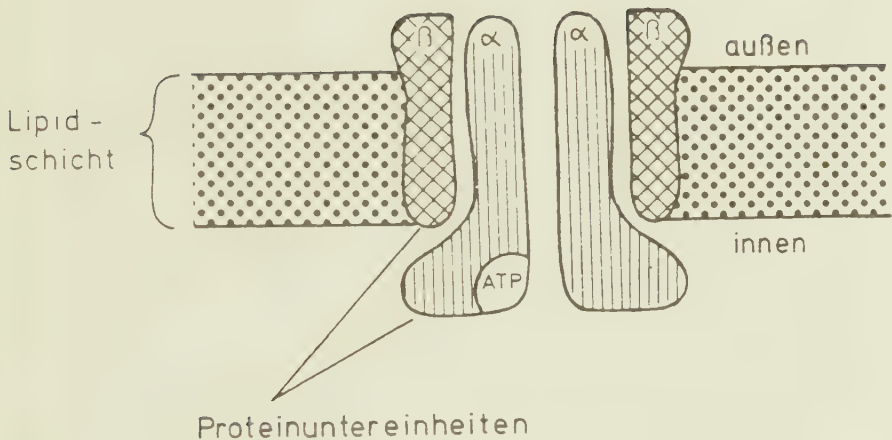


Abbildung 1:

Hypothetisches Modell der (Na⁺-K⁺)-ATPase nach Sweadner und Goldwin (59).

Jede Funktionseinheit des Enzyms besteht aus:

zwei große Proteinuntereinheiten, die die Membran durchziehen (α)

zwei kleinere nach außen gerichtete Glykoproteine (β)

eine Bindungsstelle (= enzymatisch aktives Zentrum)

drei Bindungsstellen für Na⁺ und

zwei Bindungsstellen für K⁺

Garay und Garrahan (24), Garrahan und Glynn (34) sowie Sen und Post (57) von menschlichen Erythrocyten 3 Moleküle Na^+ und 2 Moleküle K^+ pro Molekül hydrolysiertes ATP durch die Membran transportiert. Eine spezifisch hemmende Wirkung auf den membrangebundenen aktiven Na-K-Transport zeigen Herzglykoside, (Schatzmann, 1953, (56)), wobei sich eine Bindung des Herzglykosids an $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -aktivierbare ATPase nachweisen läßt (16, 17, 18, 32). Somit ermöglicht die quantitative Bestimmung von Glykosidbindungsstellen ("Glykosidrezeptoren") und ATPase-Aktivität die Berechnung der pro Enzymmolekül gespaltenen Menge ATP sowie eine Aussage über die aktive Kationentransportkapazität des Erythrocyten (17).

Die molekulare Struktur des Enzyms sowie dessen exakter Wirkungsmechanismus sind nach wie vor nicht vollständig geklärt, jedoch haben die bisher gefundenen kinetischen und physikalischen Eigenschaften zur Entwicklung entsprechender Modelle geführt ((67), siehe Abb. 1).

Nach Angaben von Dunn (14), Hoffmann (42) und Lubowitz und Whittham (47) beträgt der Anteil der Na^+/K^+ -Pumpe am gesamten Na^+ -Efflux zwischen 60% - 70%, der Anteil am gesamten K^+ -Influx ca. 75% (47).

Die trotz totaler Hemmung der Na^+/K^+ -Pumpe mit ausreichenden Dosen g-Strophanthin (0,1 mM) meßbaren Ionenbewegungen werden z. T. den von der $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -ATPase unabhängigen, ouabaininsensiblen Transportmechanismen, z. T. der von der Membranpermeabilität abhängigen passiven Diffusion zugeschrieben.

1.1.2. Ethacrynsäure- und Furosemid-sensible Ionen-fluxe

1.1.2.1. Aktiver Transport oder Austauschdiffusion

Untersuchungen zur Klärung der Funktionsmechanismen jener ouabaininsensiblen Kationenfluxe haben bisher zur Entwicklung unterschiedlicher Systeme geführt. Einige Autoren (19, 25, 41, 42, 54, 69) vermuten bei dem von der Na^+/K^+ -Pumpe unabhängigen Na^+ -Efflux einen aktiven Transport, der in der Lage ist, einen Nettoflux gegen den elektrochemischen Gradienten zu erzeugen. Andere dagegen (14, 15, 38, 47) verstehen diesen Na^+ -Auswärtsstrom als Austauschdiffusion, wobei Natrium lediglich in beiden Richtungen über die Membran mittels eines Carriers ausgetauscht wird, ohne einen Nettoflux zu bilden.

Hoffmann und Kregenow (41) und Hoffmann (42) fanden 1966 einen ouabaininsensiblen Na^+ -Efflux, der sich abhängig von der extrazellulären Na^+ -Konzentration verhielt und durch Ethacrynsäure gehemmt werden konnte. Sie bezeichneten dieses Transportsystem, dessen Energiequelle nicht ATP zu sein schien, als Pumpe II, um damit die gegen den elektrochemischen Gradienten verlaufende Na^+ -Bewegung zu charakterisieren. Ferner stellten sie einen von der Na^+/K^+ -Pumpe unabhängigen K^+ -Influx fest, der sich wie der Na^+ -Efflux empfindlich gegenüber Ethacrynsäure und abhängig von der extrazellulären Na^+ -Konzentration verhielt. Inwieweit diese Ionenströme gekoppelt waren, blieb offen, da unter anderem die Abhängigkeit von der extrazellulären K^+ -Konzentration nicht klar war (Abb. 2).

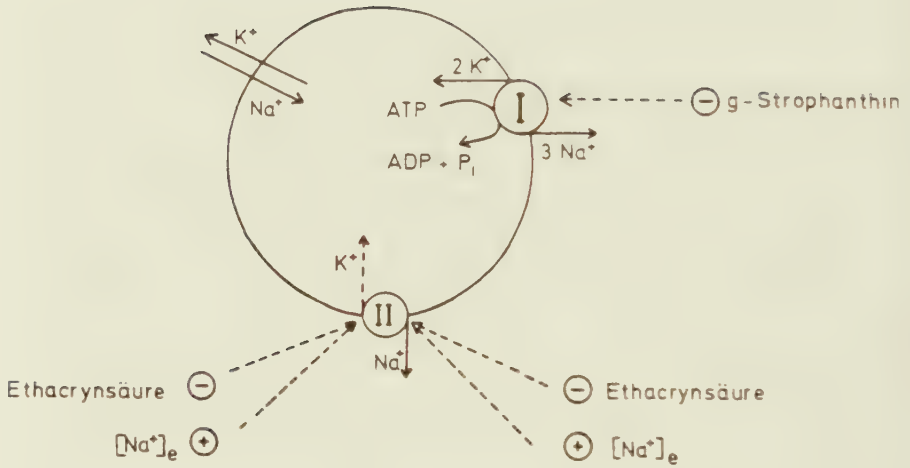


Abbildung 2:

Schematische Darstellung der "Pumpe II" nach Hoffmann (42), die er als abhängig von der extrazellulären Na⁺-Konzentration Na⁺_e und mit Ethacrynsäure hemmbar charakterisierte.

I = Na⁺/K⁺-Pumpe

↔ = passive Ionenbewegung mittels Diffusion

Dunn (15) argumentierte gegen eine Verbindung von Na^+ -Efflux und K^+ -Influx im Sinne einer zweiten Pumpe, da in einem K^+ -freien Medium ein deutlicher Furosemid-sensibler Na^+ -Efflux persistierte. Außerdem konnte er zeigen, daß Furosemid den g-Strophantin-unabhängigen Na^+ -Efflux im gleichen Ausmaß zu hemmen vermag wie Ethacrynsäure. Er folgerte daraus, daß beide Substanzen an demselben System angreifen müßten. Übereinstimmend mit Hoffmann und Kregenow (41) und Hoffmann (42), Lubowitz und Whittam (47) und Sachs (54) sprach auch Dunn (14, 15) von einem ouabain-insensiblen Na^+ -Auswärtsstrom, der von der externen Na^+ -Konzentration abhing und mit Ethacrynsäure bzw. Furosemid hemmbar war. Jedoch verstanden Dunn (14, 15) und Lubowitz und Whittam (47) den Transportmechanismus nicht als aktiven Transport, sondern als Austauschdiffusion (siehe Abb. 3).

Dunn's Argumente gegen einen Nettoflux beinhalteten zum einen, daß Furosemid den gleichen Betrag von Na^+ -Influx und Na^+ -Efflux hemmte, zum anderen, daß Erythrocyten, die mit g-Strophantin und Furosemid inkubiert wurden nicht mehr intrazelluläres Natrium anhäuften als diejenigen roten Blutkörperchen, die nur mit g-Strophantin behandelt wurden.

Widersprüchliche Angaben existieren bei der Wirkung von extrazellulärem Kalium auf den Ethacrynsäure- und Furosemid-sensiblen Na^+ -Efflux. Während Sachs (54) bereits bei Kaliumkonzentrationen von 5 - 6 mM im Medium eine Abnahme des Na^+ -Ausstroms feststellen konnte, berichtete Dunn (15) über einen unveränderten Na^+ -Efflux bei Kaliumkonzentrationen bis zu 19 mM. Beaugé (2) wiederum beschrieb eine Reduktion des Na^+ -Efflux, wenn das ex-

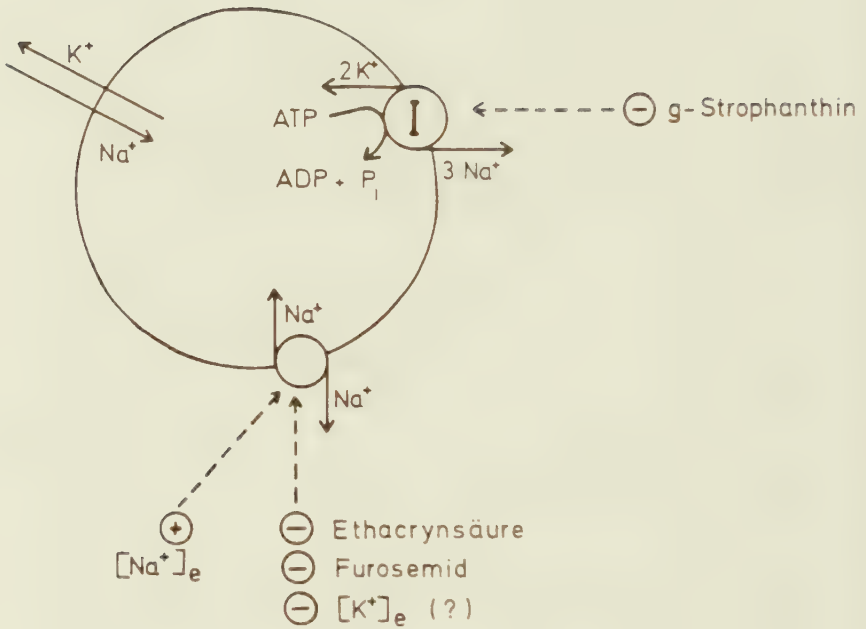


Abbildung 3:

Schematische Darstellung der g-Strophanthin-unabhängigen Ionenfluxe als Austauschdiffusion nach Dunn (14, 15).

I = aktive Na^+/K^+ -Pumpe

$\longleftrightarrow$ = passive Diffusion

trazelluläre Kalium bei 50 mM lag, wobei das Ausmaß der Reduktion zusätzlich von der intrazellulären Na^+ -Konzentration abhängig zu sein schien.

1.1.2.2. Der Na^+ - K^+ -Cotransport

Ein neuer Transportmechanismus für g-Strophantin-unabhängige Ionenbewegungen wurde erstmals von Wiley und Cooper (70) diskutiert. Sie untersuchten den Natrium- und KaliumEinstrom an Erythrocyten bei unterschiedlicher Ionenkomposition der Medien und überprüften die Wirkung von Furosemid. Dabei fanden sie eine synergistische Wirkung der Kationen auf die Einwärtsströme (d. h. $(\text{K}^+)_a$ stimuliert den Na^+ -Influx, $(\text{Na}^+)_a$ den K^+ -Influx), sowie deren Hemmung durch Furosemid. Ersatz von Na^+ bzw. K^+ im Inkubationsmedium durch Mg^{2+} , Cholin oder Li^+ zeigten eine Abnahme der Na^+ - und K^+ -Einwärtsströme und eine nur geringe Hemmung durch Furosemid. Ferner fanden Wiley und Cooper (70) einen Na^+ -Efflux in Na^+ -freies und einen K^+ -Efflux in K^+ -freies Medium, die beide ebenfalls durch Furosemid zu hemmen waren. Aufgrund dieser Untersuchungsergebnisse bezeichneten sie diese gleichgerichteten Ionenströme als Furosemid-sensiblen Na^+ - K^+ -Cotransport (siehe Abb. 4).

Garay et al. (25) (1981) knüpften an diese Ergebnisse an und untersuchten den auswärtsgerichteten Na^+ - K^+ -Cotransport durch Änderung der intrazellulären Ionenzusammensetzung. Wie Sachs (54), beschrieben auch Garay et al. (26) einen durch Erhöhung der extrazellulären Kaliumkonzentration oder durch Furosemid hemmbaren, ouabain-insensiblen Na^+ -Efflux, der gegen den Natriumgra-

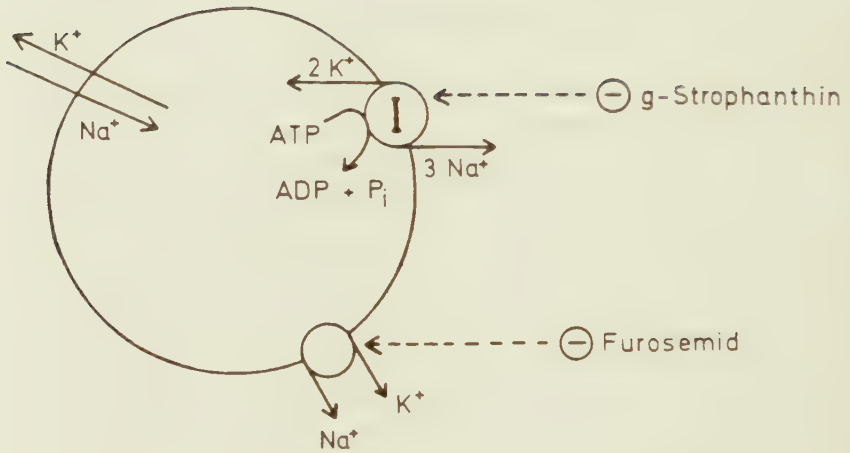


Abbildung 4:

Schematische Darstellung des Na⁺-K⁺-Cotransportes nach Garay et al. (30), hemmbar mit Furosemid.

I = aktive Na⁺/K⁺-Pumpe

↔ = passive Ionendiffusion

dienten einen Nettoflux erzeugt. Dabei scheint die Energiebereitstellung für dieses Transportsystem noch unklar zu sein, denn einerseits gehen Garay et al. (26) von der Vorstellung aus, die Energie für diesen Na^+ -Efflux könnte aus der "abwärts" gerichteten K^+ -Bewegung bezogen werden, andererseits fanden sie (26) eine Hemmung des Na^+ -Ausstroms bei ATP-Entleerung des Erythrocyten. Im Gegensatz dazu stellte Beaugé (2), der auch die g-Strophantin-unabhängigen Ionenfluxe untersuchte, keine Abhängigkeit des Natriumfluxes von ATP fest.

1.1.3. Das Na^+ - Li^+ -Gegentransportsystem

Durch Li^+ -Konzentrationsbestimmungen in Plasma und Erythrocyten von Li^+ -therapierten psychiatrischen Patienten, stieß man auf ein neues, von der Na^+/K^+ -Pumpe unabhängiges Transportsystem. Da die intraerythrocytäre Li^+ -Menge ca. 1/3 der Plasmakonzentration betrug, vermutete man einen aktiven Transportprozeß für dieses Element (48).

Duhm et al. (9) sowie Haas et al. (40) konnten einen Li^+ -Auswärtsstrom gegen einen elektrochemischen Gradienten messen, der sich unter g-Strophantin oder nach ATP-Entleerung nicht veränderte, jedoch von einem Natriumgradienten abhing, der möglicherweise die Energie für diese Ionenbewegung lieferte (Abb. 5). Eine Richtungsänderung des Natriumgradienten hatte eine Änderung des Li^+ -Fluxes in das Zellinnere zur Folge, wie Duhm et al. (9) an Erythrocytenghosts nachweisen konnten. Desweiteren war das intra-/extrazelluläre Li^+ -Verteilungsverhältnis proportional zum extra-/intrazellulären Na^+ -Konzentra-

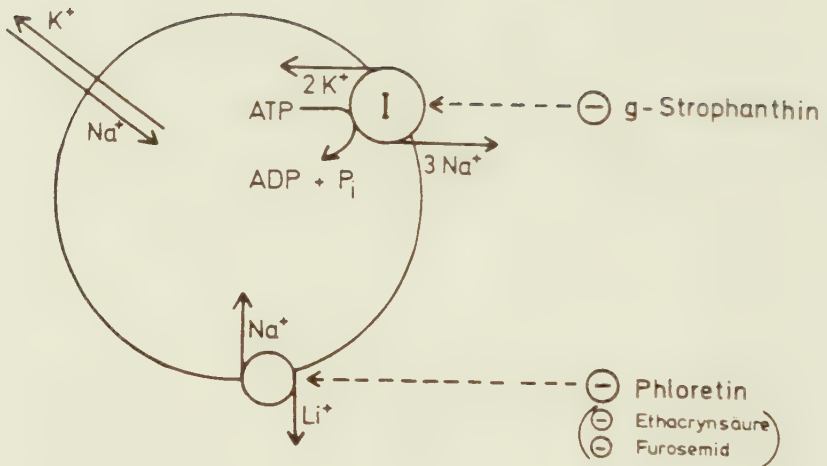


Abbildung 5:

Schematische Darstellung des Na^+ - Li^+ -Gegentransportes nach Duhm et al. (9) und Haas et al. (40), wobei hier der Na^+ -Gradient, wie unter physiologischen Bedingungen von außen nach innen gerichtet sein soll.

I = aktive Na^+/K^+ -Pumpe

$\longleftrightarrow$ = passive Ionendiffusion

tionsverhältnis und der Ersatz des Na^+ -Gradienten durch K^+ , Rb^+ , Cholin, Mg^{++} oder Ca^{++} (51) verminderte den "aktiven" Li^+ -Transport. Aus diesen Beobachtungen folgte man, daß der "aktive" Li^+ -Fluß durch die Erythrocytenmembran über einen Na^+ -abhängigen Li^+ -Gegentransport abläuft. Dieser Na^+ - Li^+ -Gegentransport ließ sich durch Ethacrynsäure, Furosemid und Phloretin beeinflussen, wobei Phloretin die vollständige Hemmung dieser Kationenbewegung bewirkte (51).

Sarkadi et al. (55) berichteten von ihren kinetischen und stoichiometrischen Untersuchungen an diesem Transportsystem, daß es Na^+ gegen Li^+ , Li^+ gegen Li^+ und auch Na^+ gegen Na^+ jeweils im Verhältnis 1:1 über die Erythrocytenmembran austauscht. Die Affinität der Bindungsstellen war dabei für Li^+ um 15 bis 18 mal größer als für Na^+ .

1.1.4. Transport von Na^+ bzw. Li^+ als NaCO_3^- bzw. LiCO_3^- über ein Anionenaustauschsystem

Eine weitere Möglichkeit für einen Natrium- bzw. Lithiumtransport über die menschliche Erythrocytenmembran beschrieben Funder et al. (21). Bicarbonat, das eine selektive Permeabilitätssteigerung für Li^+ und Na^+ , nicht jedoch für K^+ bewirkt, geht mit den beiden erstgenannten Kationen eine negativgeladene Ionenbindung ein. Über dieses spezifische Anionenaustauschsystem, das mit DIDS (4,4-diisothiocyanostilben 2,2-disulfonsäure) gehemmt wird, gelangen Na^+ und Li^+ über die Zellmembran in das Zellinnere (siehe Abb. 6).

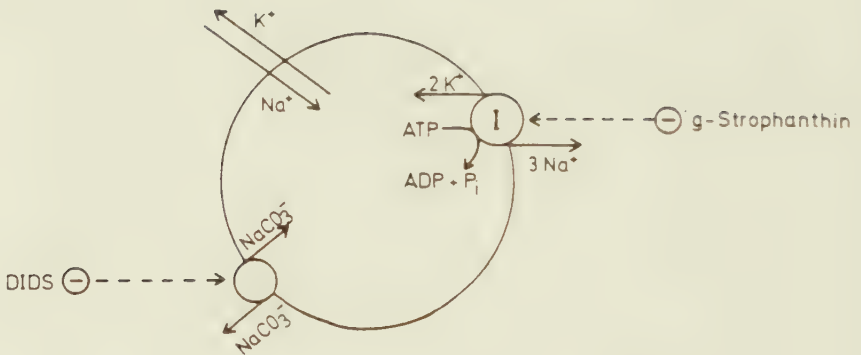


Abbildung 6:

Schematische Darstellung des Na^+ -Transportes über das Anionenaustauschsystem nach Funder et al. (22)

I = aktive Na^+/K^+ -Pumpe

$\rightleftharpoons$ = passive Ionendiffusion

In der folgenden Abb. 7 sind nochmals die Elektrolyt-transportssysteme an der menschlichen Erythrocytenmembran schematisch zusammengefaßt (abgewandelt nach Garay et al. (30)).

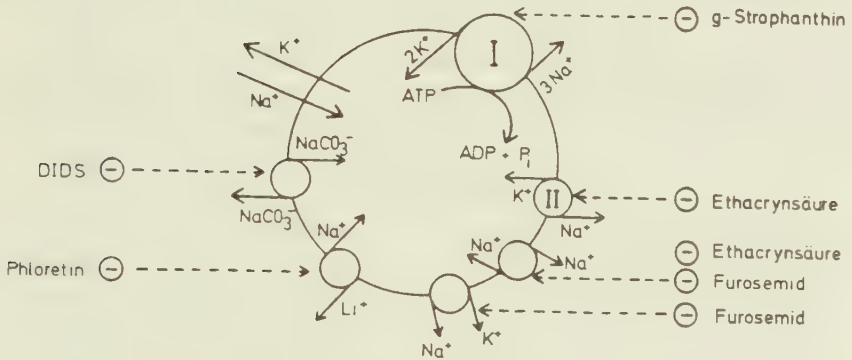


Abbildung 7:

I = g-Strophanthin-abhängige Na⁺/K⁺-Pumpe

II = Pumpe II nach Hoffmann (42) und Hoffmann und Kregenow (41)

Es folgen weiter im Uhrzeigersinn die Ethacrynsäure- und Furosemid-sensible Na⁺-Na⁺-Austauschdiffusion nach Dunn (14, 15), der Furosemid-sensible Na⁺-K⁺-Cotransport nach Garay et al. (25, 26), das Na⁺-Li⁺-Gegentransportsystem nach Duhm et al. (9) und Haas et al. (40), das Anionenaustauschsystem nach Funder et al. (22) und abschließend die mit Pfeilen eingezeichnete passive Iondiffusion von Na⁺ und K⁺.

1.2. Elektrolyttransportstörungen bei Hypertonie

1.2.1. Na^+ -Gehalt, Na^+ -Permeabilität und Na^+/K^+ -Pumpe

Bereits 1957 ging aus Untersuchungen von Dahl und Mitarbeitern (8) hervor, daß eine Abhängigkeit zwischen Kochsalzverbrauch und Hypertoniehäufigkeit besteht. Losse et al. (46) und Wessels et al. (66), die den intrazellulären Na^+ -Gehalt von Erythrocyten bei Hypertonikern und Gesunden gemessen hatten, fanden eine signifikant erhöhte Na^+ -Konzentration in den roten Blutkörperchen von essentiellen Hypertonikern und von Normotonikern mit familiärer Hochdruckbelastung gegenüber normotonen Vergleichspersonen ohne familiäre Hochdruckbelastung und Patienten mit sekundärer Hypertonie. Messungen des Na^+ -Einstroms mit radioaktiv markiertem ^{22}Na erbrachten erhöhte Werte in den Kollektiven mit benigner essentieller, maligner essentieller und renovaskulärer Hypertonie (Wessels et al. (66, 67)).

Wambach et al. (63) sowie Walter und Distler (62) konnten eine Differenz im intraerythrocytären Na^+ - und K^+ -Gehalt zwischen unbehandelten Hochdruckpatienten und Gesunden allerdings nicht bestätigen. Interessant ist jedoch, daß Walter und Distler (62) von erhöhten intrazellulären Na^+ -Konzentrationen berichteten, die bei essentiellen Hypertonikern unter diuretischer Medikation gemessen wurden.

Unterschiedliche Ergebnisse liegen auch bzgl. der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase-Aktivität}$ vor. So schienen Wambach et al. (63) eine Zunahme der Enzymaktivität an Erythrocytenghost von Hypertonikern gemessen zu haben. Andere Autoren dagegen fanden entweder eine verminderte $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATPase-Aktivität}$.

ATPase-Aktivität (53, 62) oder keine Unterschiede zwischen Hyper- und Normotonikern (19). Erdmann et al. (19) folgerten aufgrund ihrer gleichzeitigen Messungen der ^{86}Rb -Aufnahme, der ATPase-Aktivität und der Glykosidrezeptoren, daß das aktive Na^+/K^+ -Transportsystem bei unbehandelter Hypertonie nicht betroffen ist. Auch Postnov et al. (53) fanden bei Hemmung der Na^+/K^+ -Pumpe mit g-Strophantin zwar einen erhöhten Kationentransport an der Erythrocytenmembran von Hypertoniepatienten, aber eher eine verminderte $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase-Aktivität in diesem Patientenkollektiv.

1.2.2. Na^+/K^+ -Fluxquotient und Na^+/K^+ -Cotransport bei Hypertonie

Garay und Meyer berichteten 1979 (27) über veränderte Na^+ - und K^+ -Nettofluxe an Erythrocyten von Patienten mit diesem Krankheitsbild. Sie untersuchten Na^+ -beladene und K^+ -verarmte Erythrocyten auf ihre Fähigkeit, diese unphysiologische intrazelluläre Ionenkomposition in einem physiologischen Medium auszugleichen. Das Verhältnis Na^+ -Efflux/ K^+ -Influx ($=\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Fluxquotient), das als Vergleichskriterium zwischen den verschiedenen Kollektiven verwendet wurde, war bei Garay und Meyer im Fall der essentiellen Hypertoniker und der Normotensiven mit familiärer Hochdruckbelastung (N^+) erniedrigt. Während bei den schweren Hypertonieformen der verminderte Na^+/K^+ -Fluxquotient durch einen erniedrigten Na^+ -Efflux verursacht wurde, bestand bei den leichteren Fällen und bei 60% der N^+ ein gesteigerter K^+ -Influx. Im Patientenkollektiv der sekundären Hypertoniker entspra-

chen die Ergebnisse den Normalpersonen ohne Hochdruck-familienanamnese. Aufgrund dieser Beobachtungen schlugen Garay und Meyer et al. (27, 28) diese Untersuchung als klinischen Test zur Unterscheidung von essentieller und sekundärer Hypertonie vor.

In den neuesten Untersuchungen von Garay und Meyer et al. (26, 29), die sich mit der Wirkung von g-Strophantin und Furosemid auf diese Kationenfluxe befassen, wird berichtet, daß das erniedrigte Na^+/K^+ -Fluxverhältnis aus einem defekten Na^+-K^+ -Cotransport resultiert und somit das hohe intrazelluläre Natrium nur vermindert nach außen transportiert werden kann.

1.2.3. Das Na^+-Li^+ -Gegentransportsystem bei Hochdruck-erkrankungen

Canessa, Tosteson et al. (5, 6), die eine Versuchsmethode zur Bestimmung der maximalen Na^+-Li^+ -Gegentransportgeschwindigkeit entwickelten, fanden eine 2 - 3fache Erhöhung dieses Parameters bei unbehandelten und behandelten Hypertonikern sowie deren Verwandten ersten Grades. Patienten mit sekundären Hypertonieformen zeigten Werte im Normbereich.

Da dieses Gegentransportsystem nur Lithium und Natrium an seinen Bindungsstellen akzeptiert, und Lithium normalerweise im Plasma nicht vorhanden ist, folgerten Canessa et al. (5) aufgrund ihrer Ergebnisse eine gesteigerte, g-Strophantin-unabhängige Na^+-Na^+ -Austauschdiffusion bei essentieller Hypertonie.

1.2.4. Das Na^+ - Ca^{++} -Austauschsystem an der Gefäßmuskelzelle

Obwohl durch zahlreiche Untersuchungen ein Zusammenhang zwischen bestimmten Hypertonieformen und gestörtem Natriumhaushalt deutlich gemacht werden konnte, ist die ursächliche Verknüpfung von Natrium und arterieller Hypertonie sowie deren Pathogenese noch immer ungeklärt. Da man nicht nur in Erythrocyten, sondern auch in anderen Geweben, insbesondere in der Aorta von Ratten mit Kochsalz-DOCA-Hochdruck, einen erhöhten Na^+ -Gehalt nachweisen konnte (39), ist eine Elektrolyttransportstörung auch in der Gefäßmuskelzelle denkbar. Blaustein (3) formulierte 1977 eine Hypothese über den Zusammenhang von Ionentransport und Hochdruckregulation. Dabei spielt der Natriumgradient an der Membran der Gefäßmuskelzelle eine wichtige Rolle bei der Regulation der intrazellulären Ca^{++} -Ionen, die eine Muskelkontraktion unmittelbar auslösen. Calcium wird über das $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Austauschsystem aktiv aus der Zelle transportiert und ist an den passiven Na^+ -Influx gekoppelt. Erhöhung der intrazellulären Na^+ -Konzentration und damit eine Abnahme des $\text{Na}^+_{\text{a}}/\text{Na}^+_{\text{i}}$ -Quotienten bewirkt einen Ca^{++} -Einstrom, dem wiederum eine Tonussteigerung in der Gefäßmuskulatur folgen soll (3).

1.3. Elektrolyttransportstörungen als diskutierter Pathomechanismus bei verschiedenen Erkrankungen

Auch bei anderen Erkrankungen werden defekte membrangebundene Kationentransportsysteme als Ursache diskutiert. Einige Beispiele seien im folgenden aufgeführt:

Hereditäre Sphärocytose und Stomatocytose

Eine gesteigerte Durchlässigkeit der Erythrocytenmembran für Natrium und demzufolge ein erhöhter H_2O -Gehalt mit verminderter osmotischer Resistenz wurden bei hereditärer Sphärocytose und Stomatocytose beschrieben (44, 52). Bei beiden Erkrankungen findet man als Kompensationsmechanismus einen vermehrten aktiven Na^+ -Transport über die Na^+/K^+ -Pumpe, einen gesteigerten Glucoseverbrauch und eine vermehrte Lactatproduktion zur Bereitstellung von ATP.

Thalassämie

Untersuchungen an den Erythrocyten splenektomierter Thalassämiepatienten (19) zeigten erhöhte K^+ -Fluxe, gesteigerte Glykolyse und niedrigen ATP-Gehalt (vor allem in Reticulocyten und Erythrocyten mit Heinz'schen Innenkörpern).

Rh_{null} Erythrocyten

Lauf und Joiner (45) berichteten über einen Membrandefekt an Rh_{null} Erythrocyten, der mit einer Zunahme der Kaliumpermeabilität einhergeht. Der im Vergleich mit

normalen Rh_D -Zellen hohe g-Strophantin-abhängige K^+ -Influx, die $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivitätssteigerung und die vermehrten 3H -Ouabain-Bindungsstellen ließen in diesen Erythrocyten einen Anpassungsmechanismus der aktiven Na^+/K^+ -Pumpe vermuten, um dem Kaliumverlust der Zelle entgegenzuwirken.

Hypokaliämie

Bei chronischer Hypokaliämie wird trotz niedriger Serumkaliumspiegel die intraerythrocytäre Kaliumkonzentration weitgehend im Normbereich gehalten. Chan und Sanslone (7) fanden in den Erythrocyten von Ratten, die längere Zeit mit einer kaliumarmen Diät ernährt wurden, einen Anstieg der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität, die nach Kaliumsubstitution langsam wieder in den Normalbereich absank.

Erdmann et al. (19, 20) konnten bei Patienten mit chronischer Hypokaliämie, die aufgrund langdauernder Diuretikamedikation oder Laxantienabusus entstanden war, eine deutliche Zunahme der Glykosidrezeptoren, der $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität und des aktiven Na^+/K^+ -Transportes nachweisen. Patienten mit akuter Hypokaliämie zeigten keine erhöhten Ouabainbindungsstellen (21). Die Tatsache, daß bei den chronischen Hypokaliämiepatienten nach entsprechender Kaliumsubstitution die Rezeptorenzahl auf Normwerte absinkt und sich auch die $(Na^+ + K^+)$ -ATPase-Aktivität wieder normalisiert (20), spricht für eine mögliche Steuerung dieses Enzyms durch den Kaliumgradienten.

Bartter Syndrom

Das 1960 von Bartter mit hypokaliämischer, hypochlorämischer Alkalose, Reninhypersekretion mit sekundärer Angiotensin- und Aldosteronerhöhung ohne Hypertonie und mit Hyperplasie des juxtaglomerulären Apparates beschriebene Krankheitsbild bietet hinsichtlich des zugrundeliegenden Pathomechanismus verschiedene Aspekte. Zum einen wurden von Gardener et al. (33) wie auch von Gall et al. (23) über erhöhte intraerythrocytäre Natriumkonzentrationen berichtet, wobei Gardener (33) erniedrigte Na^+ -Fluxe und Gall (23) gesteigerte Na^+ -Einwärts- wie Auswärtsströme gemessen hatten. Gall diskutierte daher die ebenfalls bei diesem Krankheitsbild von ihm festgestellte erhöhte $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{ATPase}$ -Aktivität und den vermehrten aktiven Na^+ -Transport als Anpassungsmechanismus an die gestörte Na^+ -Permeabilität der Zellmembran.

Erdmann et al. (20) konnten bei einem Patienten mit Bartter Syndrom außergewöhnlich hohe Glykosidrezeptoren bestimmen, was möglicherweise auf die mit diesem Krankheitsbild verbundene Hypokaliämie zurückzuführen sein könnte.

Zum anderen dürfte bei dieser Erkrankung ein Defekt in der Chloridrückresorption im aufsteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife sehr wahrscheinlich sein (1, 36).

Lebererkrankungen

Bei Lebererkrankungen scheint die außergewöhnliche Lipidzusammensetzung der Erythrocytenmembran für die verminderten aktiven und passiven Na^+ -Ströme verantwortlich zu sein, wie Owen und Mc. Intyre (50) beschrieben.

"Sick-Cell-Syndrome"

Reduzierte Aktivität der Na^+/K^+ -Pumpe, Abnahme des Ethacrynsäure-hemmbaren Na^+ -Ausstroms und erhöhte Na^+ -Konzentration bei normalem ATP-Gehalt wurden in den roten Blutkörperchen urämischer Patienten gefunden (52, 64). Diese Veränderungen erwiesen sich nach Hämodialyse als reversibel. Ausdehnung der Studie auf andere schwere Krankheitsbilder wie z. B. Verbrennungen, metastasierende Carcinome, schwere Infekte, entgleister Diabetes mellitus und akuter Myokardinfarkt zeigten auch hier ähnliche reversible Störungen der Na^+/K^+ -Pumpe (52, 65). Dies führte zu der Annahme, daß die Veränderung im Elektrolyttransport Ausdruck für das präfinale Krankheitsstadium sein könnte (65). Leider sind bisher genauere Analysen dieser vermuteten unspezifischen Elektrolyttransportstörungen noch nicht bekannt.

1.4. Ziele der Arbeit

Zur Aufklärung der bei essentieller Hypertonie vermuteten Störung im Natriumhaushalt wurden bisher viele Untersuchungen an den Elektrolyttransportsystemen der Erythrocyten gemacht, die zum Teil zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben.

In dieser Arbeit wurden deshalb gleichzeitig drei verschiedene Versuchsmethoden nämlich, Bestimmung des Na^+/K^+ -Fluxquotienten nach Garay et al. (28), Messung des Na^+/Li^+ -Gegentransports nach Canessa et al. (5) und Bestimmung der Glykosidrezeptoren nach Erdmann et al. (20) an den Erythrocyten von Hypertoniepatienten, gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit Elektrolytstörungen durchgeführt.

Mit diesen Untersuchungen sollte geklärt werden:

1. Ob sich der Na^+/K^+ -Fluxquotient von essentiellen Hypertonikern zu Normotensiven und sekundären Hypertonikern unterschiedlich darstellt.
2. Ob der Na^+/Li^+ -Gegentransport bei essentiellen Hypertonikern im Gegensatz zu gesunden Kontrollpersonen und sekundären Hypertonikern, wie berichtet, um das Doppelte gesteigert ist.
3. Ob sich eine oder beide Methoden als laborchemischer Test zur Unterscheidung von essentiellen und sekundären Hypertonikern eignen.
4. Inwieweit eine Beeinflussung der Testergebnisse durch Medikamente und Elektrolytstörungen vorliegt.
5. Und inwieweit der aktive Elektrolyttransport über die Na^+/K^+ -Pumpe bei diesen Erkrankungen verändert ist.

2. METHODIK

2.1. Versuchspersonen

Kontrollgruppe

Das Kontrollkollektiv setzte sich aus 28 Normotonikern im Alter von 20 bis 69 Jahren (durchschnittliches Alter 36 Jahre) zusammen. Bei Routinemessungen waren nie Blutdruckwerte über 140 mm Hg systolisch und 90 mm Hg diastolisch festgestellt worden. Bezüglich der familiären Hochdruckbelastung wurde das Normalkollektiv nochmals in 22 Probanden unterteilt, in deren Familienanamnese keine Hypertonie bekannt war (N^-), und in 6 Probanden, bei denen zumindest ein Verwandter ersten Grades eine Hochdruckerkrankung hatte (N^+).

Essentielle Hypertoniker

Das Kollektiv der essentiellen Hypertoniker bestand aus 36 Patienten, die nach eingehender klinischer Untersuchung keine Organerkrankung als Ursache für den Hochdruck aufwiesen. Die 20 Männer und 16 Frauen waren zwischen 21 und 83 Jahren alt, das Durchschnittsalter betrug 52 Jahre. Der durchschnittliche Blutdruck lag in diesem Kollektiv bei 185 mm Hg systolisch und 105 mm Hg diastolisch. Neun Patienten aus dieser Gruppe erhielten Antihypertensiva, 12 nahmen Antihypertensiva und Diuretika ein, wobei das Serumkalium im Normbereich gemessen

wurde. Nur insgesamt 6 von den essentiellen Hypertoniepatienten standen vor unseren Untersuchungen nicht unter medikamentöser Behandlung. Die bereits bestehende antihypertensive und/oder diuretische Medikation der anderen Patienten wurde nicht unterbrochen, da es ärztlich nicht vertretbar ist, behandlungsbedürftigen Patienten für ca. 120 Tage (entspricht der mittleren Erythrocytenlebensdauer) die entsprechende Therapie zu entziehen. Bei 5 der essentiellen Hypertoniker wurde eine Nierenfunktionsstörung diagnostiziert, die jedoch zeitlich nach der Hochdruckerkrankung aufgetreten war.

Sekundäre Hypertoniker

Es wurden insgesamt 19 Patienten mit sekundärer Hypertonie untersucht, davon 12 Männer und 7 Frauen, im Alter von 19 bis 72 Jahren, das Durchschnittsalter lag bei 47 Jahren. Als Ursache der Hochdruckerkrankung wurde in 7 Fällen eine Nierenarterienstenose, in 7 Fällen eine Glomerulonephritis, in 2 Fällen eine Pyelonephritis, einmal ein Phäochromocytom und einmal ein reninproduzierender Tumor diagnostiziert. Bei einem Patienten mit einseitiger Nierenagenesie war die angelegte Niere im Sinne einer Schrumpfniere verändert. Alle Patienten hatten Blutdruckwerte, die höher lagen als 160 mm Hg systolisch und 95 mm Hg diastolisch. Der durchschnittliche Blutdruckwert betrug 195 mm Hg systolisch und 110 mm Hg diastolisch.

Unbehandelte Patienten ließen sich im Kollektiv der sekundären Hypertoniker nicht finden. Vier nahmen Antihypertensiva ein, 14 erhielten eine Kombinationstherapie aus Antihypertensiva und Diuretika, wovon 6 Patienten

während dieser Behandlung einen Serumkaliumspiegel unter 3,5 mval aufwiesen. Von den 19 Patienten dieses Kollektivs hatten 8 eine Niereninsuffizienz mit Kreatininwerten über 1,4 mg%. Bei 4 Patienten war eine Nierentransplantation vorgenommen worden.

Hypokaliämiepatienten

Um den Einfluß von Diuretika und die damit häufig verbundenen Hypokaliämien auf die Versuchsmethoden zu überprüfen, wurden zusätzlich 9 Patienten (8 Frauen und 1 Mann, im Alter von 28 bis 74 Jahren, Durchschnittsalter 43 Jahre) untersucht. Bei allen Patienten dieser Gruppe wurden nie hypertone Blutdruckwerte gemessen. Alle hatten aufgrund eines Saluretika- und/oder Laxantienabusus Serumkaliumwerte unter 3,5 mval/l. Unter den eingenommenen Diuretika war vorwiegend Furosemid, eine Patientin nahm ein Kombinationspräparat aus Triamteren und Hydrochlorothiazid ein, ein Patient Spironolacton und Butizid.

In folgender Tabelle 1 sind alle Versuchspersonen, die an den verschiedenen Untersuchungen teilgenommen haben nochmals mit ihren entsprechenden Daten angegeben.

Nr.	Name	Alter	RR	Art der Hypertonie	Erkrankungen	Na ⁺ /K ⁺ - Fluxverh.	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentr.	Glykosid- rezeptoren
1	G.D.	26	200/115	renovaskulär	NAS	+	+	+
2	K.A.	45	205/115	renovaskulär	NAS	+	+	+
3	M.K.-H.	40	170/110	renovaskulär	NAS, Z.n. NT	+	+	-
4	K.M.	72	230/130	renovaskulär	NAS, Bauchaorten- aneurysma	+	+	+
5	H.H.	57	185/110	renovaskulär	NAS	+	+	+
6	J.H.	51	190/105	renovaskulär	NAS, Z.n. NT	-	+	+
7	Z.S.	28	220/110	renovaskulär	NAS, Z.n. NT	-	+	+
8	H.A.	56	210/100	renoparenchymal	Glomerulon.	+	+	-
9	G.H.	48	160/95	renoparenchymal	Pyelonephritis	-	+	-
10	M.J.	60	180/90	renoparenchymal	GN	-	+	+
11	L.J.	58	175/100	renoparenchymal	Pyelonephritis	-	+	+
12	L.P.	35	180/100	renoparenchymal	GN, Z.n. NT	+	+	+
13	H.H.	53	230/130	renoparenchymal	Nierenagenesie + Schrumpfnieren	-	+	+
14	E.E.	71	200/100	renoparenchymal	GN, nephrot. Syn.	-	+	-
15	H.F.	47	170/100	renoparenchymal	GN, Z.n. NT	-	+	+
16	L.A.	39	240/130	renoparenchymal	GN	-	+	+

Nr.	Name	Alter	RR	Art der Hypertonie	Erkrankungen	Na ⁺ /K ⁺ - Fluxverh.	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentr. rezeptoren	Glykosid-
17	H.W.	50	220/120	renoparenchymal	GN, nephrot. Syn.	-	+	+
18	D.S.	19	200/110	endokrin	Phäochromocytom	+	+	+
19	R.L.	46	180/100	endokrin	reninprod. TU	+	+	+
20	F.R.	56	200/120	E.H.	HI, NI	+	-	-
21	G.G.	50	150/105	E.H.	-	+	-	-
22	M.E.	60	220/100	E.H.	subarachnoidale Blutung	+	+	+
23	H.W.	74	170/95	E.H.	KHK, Diabetes mell.	+	+	+
24	G.L.	61	180/100	E.H.	III, NI, Z.n., Apoplex	+	+	+
25	W.K.	73	180/80	E.H.	Diabetes mell.	+	+	+
26	H.K.	74	240/120	E.H.	Herzinsuff., KHK, Cholecystolith.	+	-	+
27	G.G.	26	200/130	E.H.	Hepatopathie, Adipositas	+	-	+
28	S.M.	48	145/100	E.H.	KHK, Z.n. Myokardinfarkt	+	+	+
29	S.E.	51	170/100	E.H.	KHK	-	+	+
30	W.F.	56	170/85	E.H.	Diabetes mell., Hyperlipoproteinämie IV	-	+	+
31	W.K.	34	150/95	L.E.H.	-	+	+	+
32	L.L.	66	200/95	E.H.	bradykarde HI, cere- brale Ischämie	+	-	+

Nr.	Name	Alter	RR	Art der Hypertonie	Erkrankungen	Na ⁺ /K ⁺ - Fluxverh.	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentr.	Glykosid- rezeptoren
33	M.K.	45	150/90	E.H.	KHK	-	+	+
34	H.B.	21	160/105	E.H.	-	+	+	+
35	K.F.	48	175/95	E.H.	-	-	+	+
36	K.K.	49	200/115	E.H.	v.a. Myokarditis	+	+	+
37	A.J.	67	160/90	E.H.	KHK, Extrasystolen	+	+	+
38	N.F.	28	220/130	E.H.	-	+	+	+
39	B.H.	48	175/120	E.H.	Hyperlipoproteinämie IV	+	+	+
40	H.W.	29	155/100	E.H.	-	-	+	-
41	H.S.	80	200/80	E.H.	HI bei KHK, Apoplex	-	+	-
42	T.K.	83	195/80	E.H.	Apoplex	-	+	-
43	H.H.	63	160/85	E.H.	KHK, obstruktive Ventilationsstörung	-	+	-
44	F.J.	57	180/95	E.H.	Hyperurikämie	-	+	-
45	M.A.	61	210/110	E.H.	Mitralvitium	-	+	-
46	H.L.	50	180/110	E.H.	-	-	+	+
47	P.-S.G.	52	175/115	E.H.	KHK, Hyperurikämie, Adipositas	-	+	+
48	P.J.	69	185/70	E.H.	komp. NI bei Nephrolithiasis	+	+	-

Nr.	Name	Alter	RR	Art der Hypertonie	Erkrankungen	Na ⁺ /K ⁺ - Fluxverh.	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentr.	Glykosid- rezeptoren
49	M.H.	60	170/100	E.H.	Z.n. Collum-Ca	-	+	+
50	H.I.	52	150/105	E.H.	v.a. LE	-	+	+
51	K.E.	45	240/120	E.H.	NI nach GN	+	+	+
52	P.C.	62	170/90	E.H.	Absolute Arrhythmie bei VI-flimmern	-	+	+
53	G.H.	49	160/95	E.H.	KHK	+	+	+
54	T.S.	65	185/100	E.H.	KHK, Hypercholesterin.	-	+	+
55	M.G.	46	190/120	F.H.	NI bei Pyelonephritis	-	+	+
56	B.G.	27	125/80	N -	-	+	-	-
57	B.L.	30	120/80	N -	-	+	+	+
58	St.A.	20	120/80	N -	-	-	+	+
59	K.C.	31	130/70	N -	-	+	+	+
60	R.J.	25	120/75	N -	-	+	+	-
61	Sch. M.	35	120/80	N -	-	+	+	+
62	K.W.	35	120/80	N -	-	+	+	+
63	H.T.	32	130/90	N -	-	-	+	+
64	R.E.	28	120/80	N -	-	-	+	+
65	L.B.	27	115/70	N -	-	-	+	+

Nr.	Name	Alter	RR	Art der Hypertonie	Erkrankungen	Na ⁺ /K ⁺ - Fluxverh.	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentr.	Glykosid- rezeptoren
66	B.A.	69	130/80	N -	Caecum-Ca.	-	+	-
67	R.G.	58	125/85	N -	-	-	+	-
68	G.J.	53	140/90	N -	-	-	+	-
69	U.Ch.	22	120/70	N -	-	-	+	-
70	K.W.	68	135/80	N -	-	-	+	-
71	B.I.	29	130/80	N -	-	-	+	-
72	B.W.	36	130/90	N -	-	-	+	-
73	M.E.	37	120/80	N -	-	-	+	+
74	D.S.	21	125/70	N -	-	+	-	+
75	E.J.	55	110/60	N -	-	+	-	+
76	Sch.W.	65	130/75	N -	Bronchial-Ca.	-	+	+
77	E.E.	37	120/80	N - (?)	-	+	+	+
78	Sch.H.	23	115/70	N +	-	+	+	+
79	Sch.U.	30	110/70	N +	-	+	+	+
80	S.H.	31	140/80	N +	-	+	+	-
81	R.M.	45	130/80	N +	Diabetes mell.	+	+	+
82	R.P.	29	140/90	N +	-	+	+	-
83	F.D.	23	120/80	N +	Z.n. Thyrom	-	+	+

Nr.	Name	Alter	RR	Art der Hypertonie	Erkrankungen	Na ⁺ /K ⁺ - Fluxverh.	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentr.	Glykosid- rezeptoren
84	H.A.	28	95/70	N -	Hypokaliämie bei Diabetikaab.	+	-	+
85	D.A.	37	115/70	N -	tox. Nephropathie b. La- sixab. Z.n. Nephrektom.	+	+	+
86	N.E.	53	140/80	N -	Hypokaliämie bei Diuretikaab.	+	+	+
87	W.B.	38	130/70	N -	chron. Hypokal. bei Diuretikaab., nach Nephropathie	+	+	+
88	E.I.	39	110/60	-	chron. Hypokal. bei Diuretikaab. Z.n. Para- thyreodektomie	-	+	+
89	M.M.	44	140/80	-	chron. Hypokal. bei Diuretikaab. Asthma bronchialis	-	+	+
90	R.E.	34	130/60	-	Hypokaliämie, partielle Hypophysenvorderlappen- insuffizienz	-	+	+
91	K.B.	39	110/60	N -	chron. Hypokal. bei Laxantienab.	-	+	+
92	St.A.	74	140/95	-	chron. Hypokal. bei Diuretikather. Diabetes mellitus	-	+	+

2.2. Bestimmung des Na^+/K^+ -Fluxverhältnisses an menschlichen Erythrocyten nach der Methode von Garay et al. (28)

Nach Entnahme von ca. 20 ml heparinisiertem Blut (1-2 Tropfen Thrombophob, Fa. Nordmark 5000 U.S.P.- E pro ml) aus der leicht gestauten Armvene wurde dieses 10 min. bei 3000 U/min. und 4 °C in einer Labofuge abzentrifugiert und anschließend Plasma und "buffy coat" aspiriert. Nach dreimaligem Waschen der Erythrocyten in 150 mM NaCl-Lösung (4 °C) wurden sie im sogenannten " Na^+ -ladenden Medium" 20 h bei 4 °C in einer Verdünnung von 1:20 inkubiert. Das " Na^+ -ladende Medium" wurde nach 6 h erneuert und bestand aus folgenden Substanzen: 150 mM NaCl, 1 mM MgCl_2 , 2,5 mM NaH_2PO_4 und 0,02 mM 4-Hydroxy-mercuribenzoessäure-Na-Salz (für PCMBs = 2,5-p-chloromercuribenzenesulphonate). Das pH der Lösung wurde bei 4 °C mit 100 mM Phosphatpuffer eingestellt. Nach 20 h wurde das Medium in einer Sorvall RC-5 (Rotor SS34) 10 min. mit 3000 U/min. abzentrifugiert. Die sedimentierten Erythrocyten kamen sodann bei 37 °C für 1 h in folgende Lösung: 145 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl_2 , 10 mM Glucose, 5,4 mM Phosphatpuffer, pH 7,4 bei 37 °C mit Tris, 2 mM Adenin, 3 mM Inosin und 4 mM Cystein, welches PCMBs neutralisieren soll. Das Inkubationsmedium wurde wieder in der Sorvall wie eben beschrieben abzentrifugiert und von den so gewonnenen Erythrocyten 1 ml zur Bestimmung von Hk, Na^+ und K^+ entnommen, die restlichen roten Blutkörperchen wurden sofort in einer Na-K-Ringerlösung (145 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl_2 , 2,5 mM NaH_2PO_4 , 10 mM Glucose, pH 7,4 bei 4 °C mit Tris) im Wärmebad bei 37 °C inkubiert und nach 1 h, 2 h und 3 h Hämato-

krit, intrazelluläres Na^+ und K^+ bestimmt. Dazu wurden die Proben aus dem Wärmebad nach der jeweiligen Inkubationszeit kurz in Eis auf 4°C abgekühlt, dreimal mit einer kalten (4°C) Lösung aus 150 mM Cholinchlorid, 2,5 mM Trisphosphat (pH 7,2 bei 4°C) und $2 \times 10^{-5}\text{M}$ Ouabain (= g-Strophantin) gewaschen und anschließend der Hämatokrit bestimmt. Mit destilliertem Wasser wurden die Erythrocyten dann hämolysiert und der Na^+ - und K^+ -Gehalt des Hämolysats mit dem Eppendorf-Flammenphotometer gemessen. Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors der Meßlösungen und unter Einbeziehung des Hämatokrits wurden die Meßwerte in mmol/l Erythrocyten umgerechnet. Der extrazelluläre Raumanteil im Hämatokrit, der wie unter 2.5. beschrieben, bestimmt wurde, wurde bei der Umrechnung substrahiert.

Die intrazellulären Na^+ - und K^+ -Konzentrationen wurden zeitabhängig in einem Diagramm aufgezeichnet. Der Kationen-Nettoflux wurde aus der Steigung der Geraden ermittelt und in mmol/l Erythrocyten/h ausgedrückt. Der Na^+/K^+ -Fluxquotient resultierte aus der Division von Netto- Na^+ -Efflux und Netto- K^+ -Influx. Bei allen Probanden wurden die Ergebnisse aus 4-fach-Werten in jedem Versuch ermittelt.

2.3. Messung des Na^+/Li^+ -Gegentransports an Humanerythrocyten nach der Methode von Canessa et al. (5)

15-20 ml Blut wurden aus der Armvene mit einer heparinisierten (1-2 Tropfen Thrombophob, Fa. Nordmark 5000 U.S.P.-E pro ml) Spritze entnommen, bei 3000 U/min. und 4°C 10 min. in einer Labofuge abzentrifugiert und Plas-

ma und "buffy coat" verworfen. 2 ml Erythrocyten wurden zur Messung des anfänglichen intrazellulären Natrium- und Kaliumgehaltes von der gesamten Erythrocytenmenge abgenommen und dreimal mit isoosmotischer Waschlösung aus 75 mM MgCl_2 , 85 mM Saccharose, 10 mM Glucose, 10 mM Tris-MOPS (pH 7,4 bei 4 °C), in Kälte gewaschen. Nach dem dritten Waschgang wurden die Erythrocyten mit der isoosmotischen Waschlösung 1:1 verdünnt. Aus dieser Suspension I wurde der Hämatokrit entnommen, danach mit bidestilliertem Wasser die Erythrocyten hämolysiert und Na^+ sowie K^+ mit dem Eppendorf-Flammenphotometer im nochmals verdünnten Hämolysat gemessen.

Zur Bestimmung des Lithiumfluxes wurden 6 ml Erythrocyten zuerst drei Stunden bei 37 °C in 30 ml Medium, bestehend aus 150 mM LiCl , 10 mM Glucose, und 10 mM Tris-MOPS (pH 7,4), mit Lithium beladen. Anschließend wurde das Medium bei 3000 U/min., 4 °C, fünf Minuten in einer Sorvall RC-5 (Rotor SS34) abzentrifugiert und die Zellen fünfmal in der isoosmotischen Lösung gewaschen, um extrazelluläres Lithium zu entfernen. Es wurde dann eine 1:1 Suspension II aus den mit Li^+ beladenen roten Blutkörperchen und der isoosmotischen Lösung hergestellt und in Eis kühl gehalten. Aus dieser Suspension II wurde wieder eine Probe zur Bestimmung von intrazellulärem Na^+ , K^+ und Li^+ entnommen und der Hämatokrit gemessen, der zwischen 40 und 50 % lag. Die intraerythrocytäre Li^+ -Konzentration belief sich auf $7,6 \pm 0,8$ (S.D.) mmol/l Erythrocyten, die K^+ -Konzentration war $86,6 \pm 6,4$ (S.D.) mmol/l Erythrocyten, und der Na^+ -Gehalt lag bei $3,5 \pm 1,2$ (S.D.) mmol/l Erythrocyten im Durchschnitt.

Der Lithiumefflux aus den Li^+ -beladenen Zellen wurde zum einen in natriumfreiem Medium (75 mM MgCl_2 , 85 mM

Saccharose, 10 mM Glucose, 0,1 mM Ouabain, 10 mM Tris-MOPS, pH 7,4), zum anderen in natriumreichem Medium (150 mM NaCl, 10 mM Glucose, 0,1 mM Ouabain, 10 mM Tris-MOPS, pH 7,4) als spezifisch gegen Natrium ausgetauschtes Lithium ermittelt. Dazu wurden 0,6 ml der Erythrocyten-Suspension II in 6 ml der beiden verschiedenen Medien pipettiert und bei 37 °C inkubiert. Nach 20, 40 und 60 min. wurden 1,4 ml des jeweiligen Inkubationsmediums sofort in einer Eppendorf-Microfuge 1 Minute mit 12000 U/min abzentrifugiert, der Überstand vorsichtig mit einer Spritze abgezogen und für die Lithiummessung im Eppendorf-Flammenphotometer in ein Plastikröhrchen überpipettiert. Zur Ermittlung des O-Wertes wurden 1,5 ml der Erythrocyten-Suspension II gleich abzentrifugiert und im Überstand, wie eben beschrieben, der Li^+ -Gehalt gemessen. Der Li^+ -Ausstrom in mmol/l Erythrocyten wurde zeitabhängig für natriumreiches und natriumfreies Medium in einem Diagramm aufgezeichnet, wobei jeder einzelne Punkt das arithmetische Mittel eines 3-fach-Wertes repräsentiert. Die Differenz beider Geraden (Li^+ -Efflux in natriumreichen und Li^+ -Efflux in natriumfreien Medium) ergab den maximalen Na^+ - Li^+ -Gegentransport.

2.4. Bestimmung der Glykosidrezeptoren an menschlichen Erythrocyten mit ^3H -Ouabain nach der Methode von Erdmann et al. (20)

Von jedem Probanden wurden 10 ml Blut aus der Armvene mit einer heparinisierten Spritze (1-2 Tropfen Thrombophob, Fa. Nordmark 5000 U.S.P.-E pro ml) entnommen, bei 3000 U/min. und 4 °C 20 min. in einer Labofuge die Erythrocyten abzentrifugiert, Plasma und "buffy coat" vor-

sichtig abpipettiert. Die sedimentierten roten Blutkörperchen wurden zweimal in einem 1 mM Hepespuffer, der 150 mM NaCl, 5 mM KCl, und 5 mM Glucose enthielt, gewaschen. Nach dem letzten Waschgang (ohne KCl) wurden die Erythrocyten mit der 1 mM Hepespufferlösung (150 mM NaCl, 10 mM Glucose, kein KCl) suspendiert (Verdünnung 1:20) und in einem Coulter-Counter Modell S (Coulter Electronics, Dunstable, Bed., U.S.A.) gezählt. Die restliche Erythrocytensuspension wurde mit 1 mM Hepespuffer (pH 7,4), 150 mM NaCl, 3 mM ATP, 3 mM $MgCl_2$, 2-4 nM 3H -Ouabain und steigenden Konzentrationen nicht markierten Ouabains (4×10^{-8} M bis 4×10^{-7} M) bei 37 °C über 5 h inkubiert, um in allen Experimenten nach Äquilibrierung identische Versuchsbedingungen zu schaffen. Als unspezifische 3H -Ouabain-Bindung wurde diejenige Radioaktivität gemessen, die trotz Gegenwart von 10^{-4} M unmarkiertem Ouabain vorhanden war. Sie betrug nicht mehr als etwa 5% der gesamten an Erythrocyten gebundenen Radioaktivität. Nach fünf Stunden Inkubationszeit wurden die Erythrocyten über Whatman GF/C Glasfaserfilter rasch abgefiltert und zweimal mit 10 ml auf Eiswassertemperatur gekühltem destilliertem Wasser nachgespült. Die gesamten Filterscheiben wurden auf Glasplatten im Trockenschrank 30 min. lang bei 90 °C getrocknet, danach sofort mit einer Pinzette in die Szintillationsgefäße (Fa. Zinnser) gelegt und mit Szintillationsflüssigkeit (10 ml Quickszint 501 Fa. Zinnser) übergossen. Die auf den Filtern gebundene Radioaktivität wurde in einem Szintillationszähler (Packard Tri-Carb 2660) in cpm gemessen und die Bindungsdaten nach Scatchard aufgetragen. Der Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate (B_0) ergab die Gesamtzahl der Ouabain-Bindungsstellen (= Glykosidrezeptoren), die mit der Formel $B_0 \times$ Loschmidtsche Zahl : gezählte Erythrocyten noch pro Erythrocyt umgerechnet wurden.

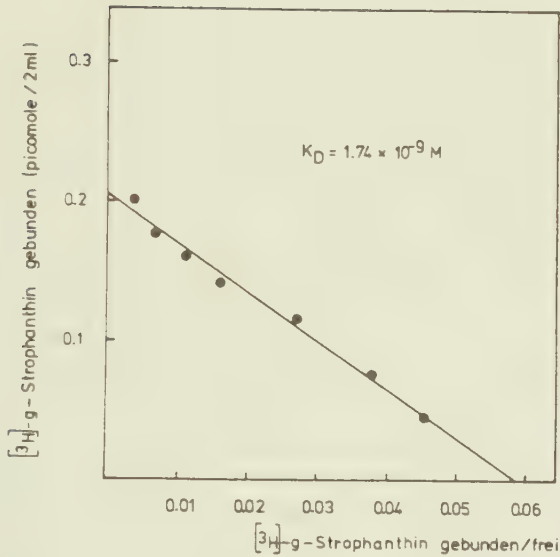


Abbildung 8:

Scatchard Plot mit ^3H -Ouabain

$r = 0,99$ $B_0 = 0,206$ $K_D = 1,74 \times 10^{-9}$

Die Anzahl der Glykosidbindungsstellen wurde bei dieser Normalperson mit 400 pro Erythrocyt berechnet.

Bei jeder Versuchsperson wurden die Glykosidrezeptoren als Doppelwerte bestimmt.

2.5. Bestimmung des Extrazellulär-raumes im Hämatokrit mit ^{14}C -Inulin

Um bei der Berechnung der gemessenen Konzentrationen von Natrium, Kalium und Lithium und Umrechnung in mmol/l Erythrocyten Fehler zu vermeiden, wurde eine Eichkurve zur Bestimmung des extrazellulären Raumanteils im Hämatokrit folgendermaßen ermittelt:

Ca. 15 ml heparinisiertes Blut wurden 10 min. mit 3000 U/min. in einer Labofuge abzentrifugiert, Plasma und "buffy coat" entfernt und die sedimentierten Erythrocyten dreimal mit 150 mM NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurden aus den Erythrocyten unter Zugabe von NaCl-Lösung Suspensionen mit unterschiedlicher Verdünnung (Hämatokritwerte der Suspensionen zwischen 20 bis 65 %) hergestellt und jeder Suspension die gleiche Menge ^{14}C -Inulin (40 μl) zugefügt. Von jeder Suspension wurde nach gründlichem Durchmischen eine Probe in Glaskapillaren (Hawskley Microhämatokrit, heparinisiert) aufgezogen und diese in einer Microhämatokritzentrifuge (Heraeus-Christ GmbH) 3 min. abzentrifugiert. Anschließend wurden die Kapillarröhrchen an der Grenze zwischen Zell- und Flüssigkeitsanteil durchtrennt. Mit einem Gemisch aus Soluene und Isopropanol (1:1) wurden die zerkleinerten, zellhaltigen Glaskapillaren in Zählröhrchen 30 min. inkubiert, danach mit 35%igem H_2O_2 die Erythrocyten entfärbt und nach Zugabe von Szintillationsflüssigkeit (Quickszint 501, Fa. Zinnser) die Radioaktivität in cpm in einem Szintillationszähler (Packard Tri-Carb 2660) gemessen.

Wie in Abbildung 9 wurden dann die gezählten cpm gegen die verschiedenen Hämatokritgrößen aufgezeichnet. Die

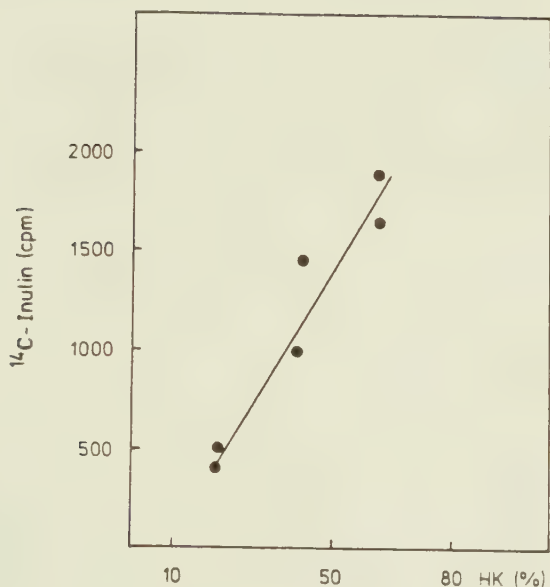


Abbildung 9:

Eichkurve zur Bestimmung des extrazellulären Rauman-
teils im Hämatokrit ($r = 0,96$)

Die verwendeten Glaskapillaren waren 6,75 cm lang und
hatten ein Volumen von 50 μl . Der Maximalwert betrug
60095 cpm.

so ermittelte Kurve ließ sich zwar nicht, wie gefordert, durch den Nullpunkt legen, konnte aber aufgrund ihres reproduzierbar linearen Verlaufs, wie Abb. 9 zeigt, dennoch als Eichkurve ($r = 0,96$) verwendet werden.

Entsprechend den in den Experimenten gemessenen Hämatokritwerten wurden aus dieser Eichkurve die cpm abgelesen und durch deren Umrechnung der jeweilige Extrazellulärraum ermittelt. Die zur Umrechnung notwendigen Daten sind in der Abbildung 9 mitangegeben.

2.6. Statistik

Alle Ergebnisse sind als Mittelwerte $\pm$ S.D. und $\pm$ S.E.M. aufgeführt.

Die statistische Prüfung der Kollektive erfolgte nach dem T-Test. Dabei wurden jeweils zwei Kollektive anhand ihrer Mittelwertdifferenzen unter Berücksichtigung der Standardabweichungen verglichen. Die Differenz wurde als signifikant beurteilt, wenn die Werte für das Signifikanzniveau "p" unter 0,05 lagen.

3. RESULTATE

3.1. Bestimmung des Na^+/K^+ -Fluxquotienten nach Garay et al. (28)

3.1.1. Anfängliche intrazelluläre Kationenkonzentration und nach Aufladen der Erythrocyten mit Natrium

Wie unter 2.2. beschrieben, wurden in den Erythrocyten zu Anfang und nach der 20-stündigen Inkubation im "Na⁺-ladenden Medium" die Natrium- und Kaliumkonzentration bestimmt. Die Kationen aus dem Plasma bzw. aus dem Inkubationsmedium wurden mit der Cholinchlorid-Lösung herausgewaschen.

Losse et al. (46) und Wessels et al. (67) hatten bei Patienten mit essentieller Hypertonie und bei normotonen Probanden mit familiärer Hochdruckbelastung erhöhte intraerythrocytäre Natriumkonzentrationen gegenüber normotonen Vergleichspersonen ohne Hypertonie in deren Familien und gegenüber Patienten mit symptomatischer Hypertonie festgestellt.

Wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist, konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden. Es ließ sich weder zwischen essentiellen Hypertonikern und sekundären Hypertonikern ein signifikanter Unterschied im Natriumgehalt der Erythrocyten finden, noch eine Differenz zum Kollektiv der normotonen Vergleichspersonen ohne familiäre Hochdruckbelastung zeigen. Die Gruppe der Normotoniker mit familiärer Hochdruckbelastung hatte dagegen im Durchschnitt niedrigere Na⁺-Konzentrationen in den Erythrocyten als die Gruppe der Normotoniker ohne Hochdruckerkrankung in der Familie ($p = 0,03$).

Tabelle 2:

Gruppe	Alter	RR syst. mmHg	RR diast. mmHg	Na ⁺ mmol/l _E	anfanglich K ⁺ mmol/l _E	nach Aufladen mit Na ⁺ Na ⁺ mmol/l _E K ⁺ mmol/l _E
N -	32 ± 10 n=9	121 ± 5	75 ± 7	9.3 ± 2.1	96.9 ± 3.9	43.9 ± 6.7 60.6 ± 6.5
N +	30 ± 8 n=6	126 ± 13	78 ± 7	7.4 ± 0.7	96.4 ± 5.4	36.6 ± 3.1 67.2 ± 8.2
essentielle Hypertonie	52 ± 16 n=21	185 ± 28	105 ± 15	8.3 ± 2.5	94.5 ± 5.8	42.6 ± 10.6 58.6 ± 16.2
sekundäre Hypertonie	44 ± 16 n=9	195 ± 18	110 ± 9	8.5 ± 2.6	98.2 ± 5.9	39.1 ± 7.2 68.8 ± 9.8
Hypokaliämie	39 ± 10 n=4	122 ± 27	72 ± 5	6.6 ± 0.9	94.9 ± 7.4	37.7 ± 8.5 64.0 ± 13.0

Möglicherweise hängt dies mit dem niedrigen Durchschnittsalter (30 ± 8 Jahre) dieses Kollektivs zusammen. Wessels (69) hatte den Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht, familiärer Hochdruckbelastung und intrazellulärer Natriumkonzentration in den Erythrocyten untersucht und in der Gruppe der unter 30 Jahre alten Normotoniker mit familiärer Hochdruckbelastung ebenfalls einen niedrigeren Natriumgehalt gefunden.

Auffallend ist jedoch, daß das intraerythrocytäre Natrium bei den Hypokaliämiepatienten gegenüber allen Kollektiven außer N^+ deutlich vermindert ist ($p = 0,007$ zum Normalkollektiv N^-).

Die Kaliumkonzentrationen dagegen weichen in allen Gruppen nicht wesentlich voneinander ab. Insbesondere weisen alle Hypokaliämiepatienten bei niedrigem Serumkaliumspiegel einen normalen Kaliumgehalt in den Erythrocyten auf, was auch mit den Ergebnissen von Bolte et al. (4) und Chan und Sanslone (7) übereinstimmt.

Vergleicht man die Natriumkonzentrationen der roten Blutkörperchen nach der Aufladungsphase, so fällt eine geringere Na^+ -Aufnahme im Kollektiv der Hypokaliämiepatienten und der normotonen Personen mit familiärer Hochdruckbelastung auf. Aufgrund der großen Standardabweichung ist p zu N^- und zu den essentiellen Hypertonikern nicht ausreichend signifikant ($p < 0,1$). Zwischen N^+ und N^- sowie zwischen N^+ und essentiellen Hypertonikern ist p mit 0,03 im Signifikanzbereich. Bei den Kaliumkonzentrationen werden durch die großen Abweichungen von den Mittelwerten keine wesentlichen Unterschiede deutlich. Lediglich zeigen die Erythrocyten der sekundären Hypertoniker einen geringeren K^+ -Verlust während der Aufladungsphase als die roten Blutkörperchen der essentiellen Hypertoniker ($p < 0,04$).

Die in Garay's Publikation (28) angegebenen Natrium- und Kaliumkonzentrationen nach Aufladen der Erythrocyten mit Natrium liegen insgesamt höher für Na^+ bzw. niedriger für K^+ . Dies könnte zum einen möglicherweise auf einen verschiedenen Meßzeitpunkt zurückzuführen sein. Zum Beispiel wurden bei ein und derselben Versuchsperson für Na^+ um 8 mmol/l Erythrocyten höhere und für K^+ um 6,5 mmol/l Erythrocyten niedrigere Konzentrationen unmittelbar nach der 20^h-Inkubation in Na^+ -ladendem Medium gemessen als nach der 1^h-Inkubation in "Cysteinlösung". Zum anderen erwies sich die Na^+ -Beladung nach der Methode von Garay et al. (28) als problematisch, da es des öfteren nicht gelang eine ausreichende Natriumaufnahme in den Erythrocyten zu erzielen.

3.1.2. Na^+ - und K^+ -Nettoflux an den Erythrocyten normotensiver Versuchspersonen nach Aufladen mit Natrium

Die Abbildung 10 zeigt den zeitabhängigen Verlauf von Na^+ -Efflux und K^+ -Influx an Na^+ -beladenen Erythrocyten eines normotonen Probanden in physiologischer Na^+ - K^+ -Ringerlösung. Die Kationenfluxe, die dazu tendieren, das physiologische Verhältnis von hohem intrazellulärem Kalium und niedrigem Natrium wiederherzustellen, verlaufen, wie in Garay's Darstellungen (27), auch hier linear über die angegebene Meßzeit. Allerdings verwendete Garay in dieser Veröffentlichung eine wesentlich höhere Konzentration (0,1 mM statt 0,02 mM) an PCMBs, weshalb seine Ausgangskonzentrationen vor Beginn der Fluxmessungen für Na^+ über 100 mmol/Erythrocyten und für K^+ unter 15 mmol/l Erythrocyten betrugen.

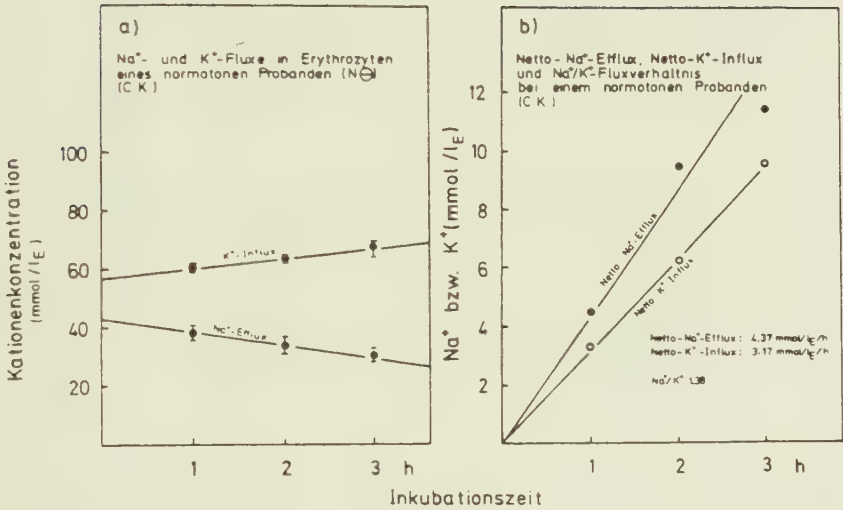


Abbildung 10:
zeitabhängiger Verlauf von Na⁺-Efflux und K⁺-Influx an Na⁺-beladenen Erythrocyten

Jeder Punkt im Diagramm repräsentiert das arithmetische Mittel aus 4-fach-Werten.

Eine Übereinstimmung der Meßgrößen ergibt sich für den Netto- Na^+ -Efflux ($3,5 \pm 1$ S.D. mmol/l Erythrocyten, bei Garay ((28) $3,3 \pm 0,8$ S.D. mmol/l Erythrocyten). Der Netto- K^+ -Influx dagegen war bei den Normotonen ohne familiäre Hochdruckbelastung mit $2,7 \pm 0,9$ S.D. mmol/l Erythrocyten gegenüber $1,4 \pm 0,5$ S.D. mmol/l Erythrocyten in Garay's Angaben (28) signifikant höher.

3.1.3. Netto- Na^+ -Efflux, Netto- K^+ -Influx und Na^+/K^+ -Fluxquotient in den verschiedenen Kollektiven

Gruppe	Netto- Na^+ -Efflux	Netto- K^+ -Influx	Na^+/K^+ - Fluxverhältnis	n
N -	3.47 ± 1.0	2.74 ± 0.9	1.59 ± 1.1	9
N +	3.21 ± 0.4	3.59 ± 1.1	0.94 ± 0.2	5
essentielle Hypertonie	3.89 ± 1.08	3.54 ± 1.4	1.31 ± 0.7	21
sekundäre Hypertonie	4.13 ± 0.8	3.15 ± 1.3	1.69 ± 1.1	9
Hypokaliämie	3.85 ± 1.1	5.6 ± 1.4	0.69 ± 0.1	4

Tabelle 3: Fluxe sind als Mittelwerte $\pm$ S.D. angegeben.

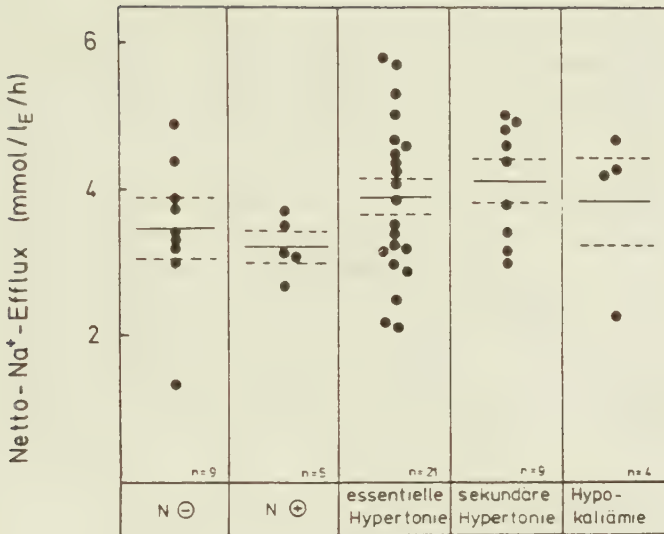


Abbildung 11:

Netto-Na⁺-Efflux an Erythrocyten bei verschiedenen Kollektiven

----- = S.E.M.

_____ = Mittelwert

3.1.3.1. Netto-Na⁺-Efflux

Wie aus Tabelle 3 und Abbildung 11 ersichtlich, ist bei den fünf normotonen Versuchspersonen mit familiärer Hochdruckbelastung (N+) der Netto-Na⁺-Efflux signifikant niedriger gegenüber den essentiellen ($p < 0,03$) und sekundären Hypertonikern ($p < 0,01$). Auch in der Gruppe

der Hypokaliämiepatienten findet sich kein gesteigerter Netto- Na^+ -Efflux, der in diesen beiden Gruppen angesichts der anfänglich niedrigen Na^+ -Konzentration in den Erythrocyten (Tabelle 2) eigentlich zu erwarten wäre.

Eine Erklärung hierfür wäre, daß durch die Verwendung von PCMBs, das die Membranpermeabilität für monovalente Kationen erhöht und den aktiven Ionentransport hemmt (35, 60), Transportsysteme in ihrer Funktion beeinträchtigt werden könnten. Garrahan und Rega (35) stellten fest, daß der aktive Transport eine längere Erholungsphase in Cysteinlösung benötigte als die passiven Kationenfluxe. Somit könnte ein vermehrter Na^+ -Ausstrom bei Verwendung dieser Hg-haltigen Substanz nicht mehr erfaßt werden.

3.1.3.2. Netto- K^+ -Influx

In den Untersuchungen von Garay et al. (27, 28) wurden bei benigner essentieller Hypertonie und Normotonikern mit familiärer Hochdruckbelastung (N+) ein hoher Netto- K^+ -Influx gemessen, wodurch sich diese beiden Gruppen von gesunden Vergleichspersonen und sekundären Hypertonikern deutlich unterschieden.

Die Durchschnittswerte des Netto- K^+ -Influx sind, wie in Tabelle 3 und Abbildung 12 dargestellt, für N+ und essentielle Hypertoniker beinahe identisch und liegen höher als im gesunden Kontrollkollektiv (N-). Das Signifikanzniveau ist jedoch aufgrund der großen Streuung nicht aussagekräftig genug, um eine eindeutige Abgrenzung zum Normalkollektiv (N-) zu gewährleisten. Die sekundären Hypertoniker liegen zwischen dem Normalkollektiv (N-) und den essentiellen Hypertonikern und zeigen

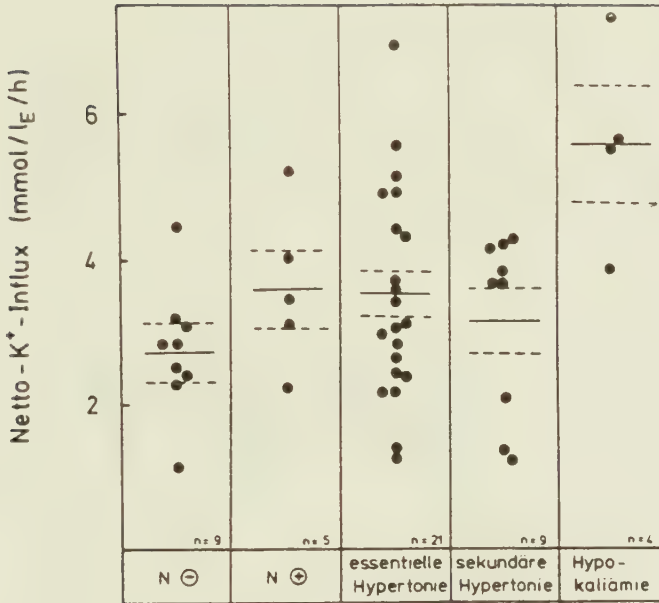


Abbildung 12:

Netto-K⁺-Influx an Erythrocyten bei verschiedenen Kollektiven

----- = S.E.M.

_____ = Mittelwert

zu keiner der beiden Gruppen einen wesentlichen Unterschied.

Interessant dagegen ist das Ergebnis bei den Hypokaliämiepatienten, bei denen der höchste Netto-K⁺-Influx von durchschnittlich 5.6 ± 1.4 S.D. mmol/l Erythrocyten gemessen wurde. Dieser war mit $p = 0.02$ deutlich unterschiedlich vom Normalkollektiv (N-).

3.1.3.3. Na^+/K^+ -Fluxquotient

Aus dem hohen K^+ -Influx ergibt sich ein niedriges Na^+/K^+ -Fluxverhältnis bei der Hypokaliämiegruppe. Dies ist nochmals in der Abbildung 13 am Beispiel einer Patientin dieses Kollektivs gezeigt.

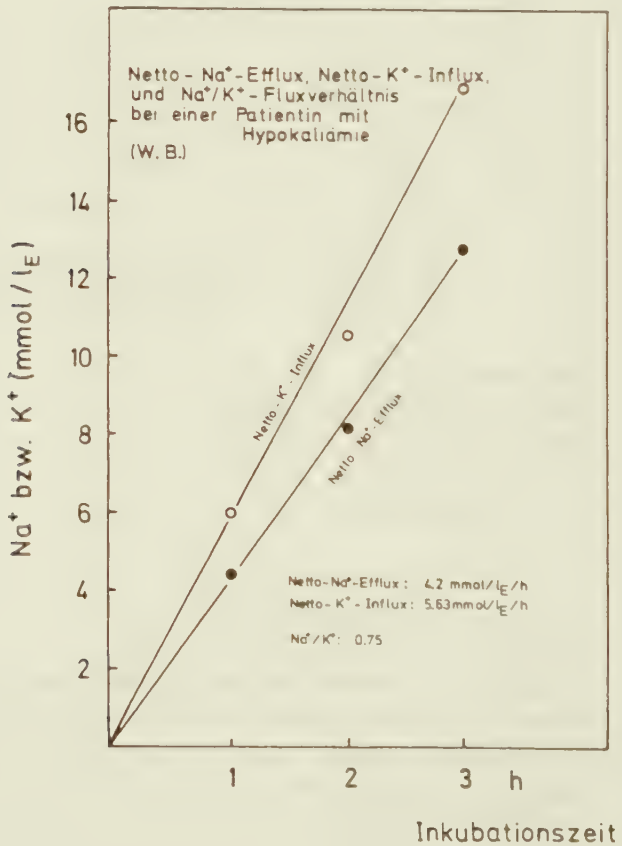


Abbildung 13:

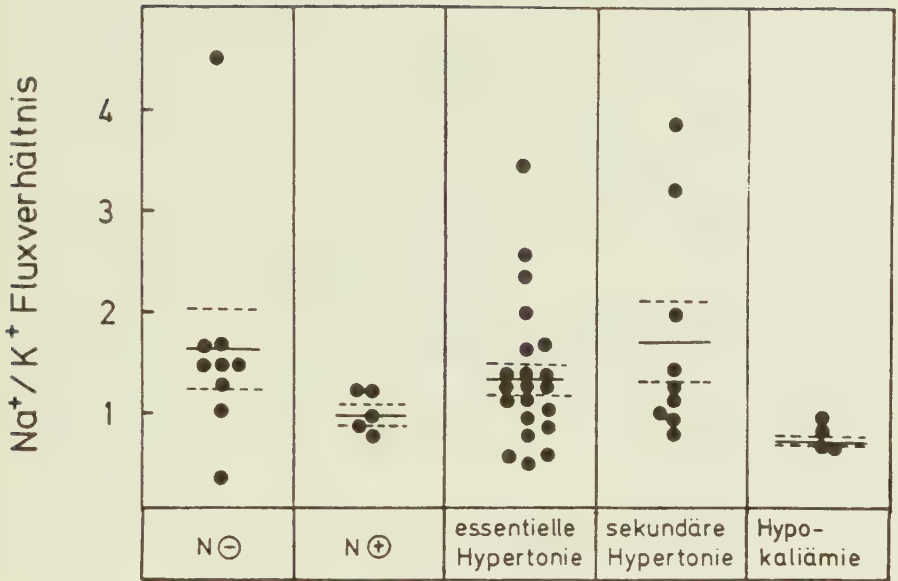


Abbildung 14:

Na⁺/K⁺-Fluxverhältnis an den Erythrocyten bei verschiedenen Kollektiven:

Es zeigt sich eine deutliche Überlappung bei den essentiellen und sekundären Hypertonikern, N⁻ und N⁺. Die Hypokaliämiegruppe weist als einziges Kollektiv einen noch signifikant niedrigeren Mittelwert auf (p = 0,05).

----- = S.E.M.

_____ = Mittelwert

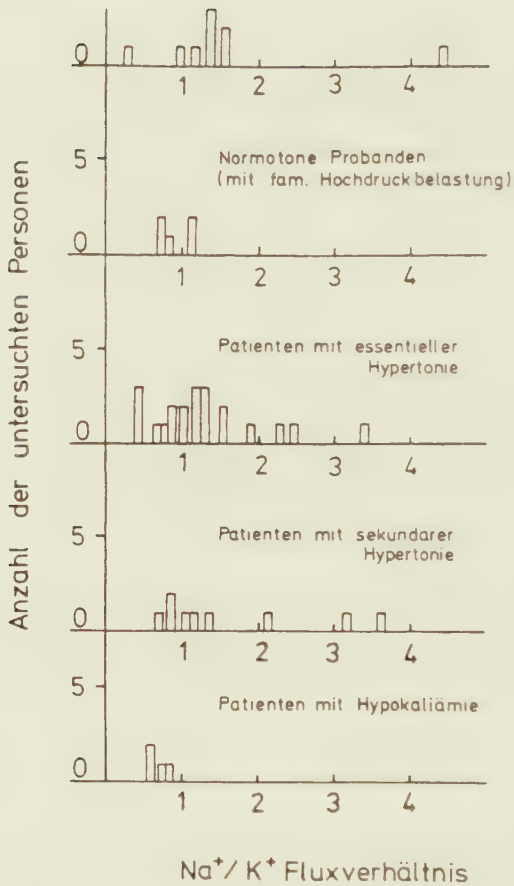


Abbildung 15:

Histogramm der Na^+/K^+ -Fluxverhältnisse an den Erythrocyten von normotonen Kontrollgruppen, Normotonen mit familiärer Hochdruckbelastung, essentiellen Hypertonikern, sekundären Hypertonikern und Hypokaliämiepatienten.

Es findet sich kein Unterschied in der Verteilung zwischen essentiellen Hypertonikern, N- und sekundären Hypertonikern. Die vier Hypokaliämiepatienten mit Diuretikaabusus liegen alle mit ihrem Na^+/K^+ -Fluxverhältnis unter 1.

Der Durchschnittswert (Tabelle 3) mit $0,69 \pm 0,1$ S.D. mmol/l Erythrocyten lag mit $p = 0,05$ noch signifikant unter dem Na^+/K^+ -Fluxquotienten beider Hypertoniekollektive und N-, zu den Normotensiven mit familiärer Hochdruckbelastung (N+) war er kaum unterschiedlich. Aus diesen Ergebnissen kann keine Unterscheidung zwischen essentiellen und sekundären Hypertonikern bezüglich deren Na^+/K^+ -Fluxquotienten gemacht werden. Ebenso haben die Kontrollpersonen gleich niedrige Durchschnittswerte, sodaß hier mit der von Garay (28) angewandten Methode weder gesunde Vergleichspersonen von Patienten mit essentieller Hypertonie, noch Patienten mit sekundärer Hypertonie von denjenigen mit essentiellem Hochdruck unterschieden werden können (siehe auch Abb. 14,15).

3.1.4. Na^+ - und K^+ -Nettofluxe und Na^+/K^+ -Fluxquotient in Abhängigkeit vom arteriellen Mitteldruck

In den Abbildungen 16, 17 und 18 sind die Beziehungen der Kationennettofluxe sowie der Na^+/K^+ -Fluxquotienten zum arteriellen Mitteldruck graphisch dargestellt. Ein umgekehrt proportionales Verhältnis von Netto- Na^+ -Efflux und Mitteldruck wie Garay et al. (27) es feststellen konnten, liegt hier nicht vor.

Ebenso kommt es weder zu einem Anstieg des Netto- K^+ -Influx bei gemäßigtem essentiellen Hypertonus noch zu einem Absinken dieses Parameters bei schweren Formen der essentiellen Hypertonie. Hier haben die normotonen Hypokaliämiepatienten die höchsten Netto- K^+ -Influxwerte und damit auch die niedrigsten Na^+/K^+ -Fluxquotienten.

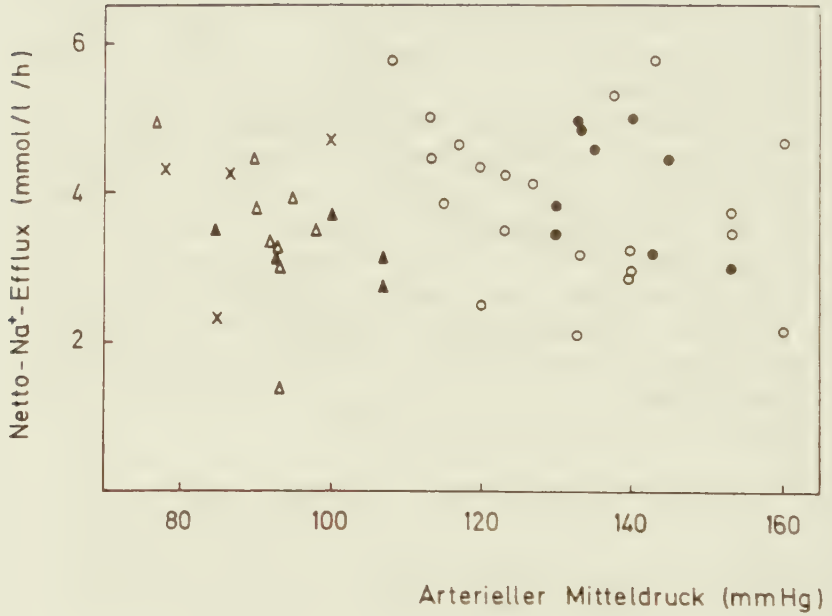


Abbildung 16:

Netto-Na⁺-Efflux in Abhängigkeit vom arteriellen Mitteldruck

- = essentielle Hypertoniker
- = sekundäre Hypertoniker
- X = Hypokaliämiepatienten
- △ = N-
- ▲ = N+

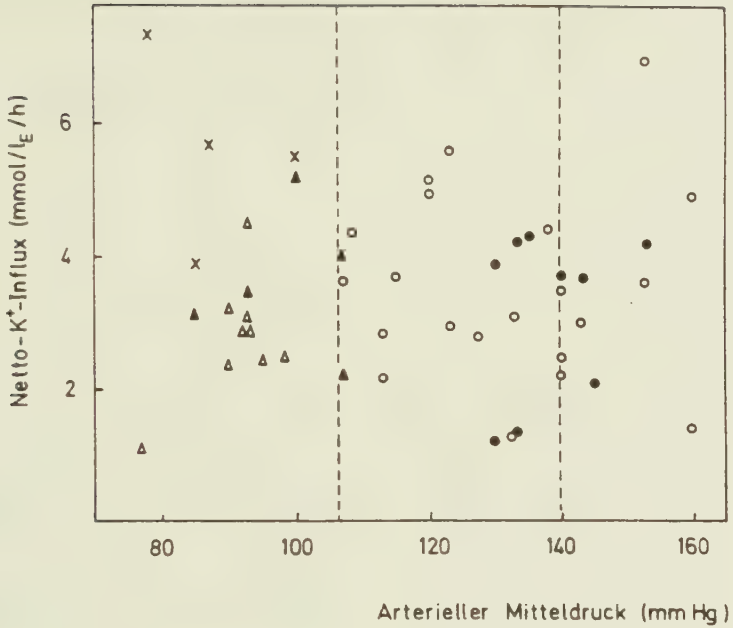


Abbildung 17:

Netto-K⁺-Influx in Abhängigkeit vom arteriellen Mitteldruck

- = essentielle Hypertoniker
- = sekundäre Hypertoniker
- × = Hypokaliämiepatienten
- △ = N-
- ▲ = N+

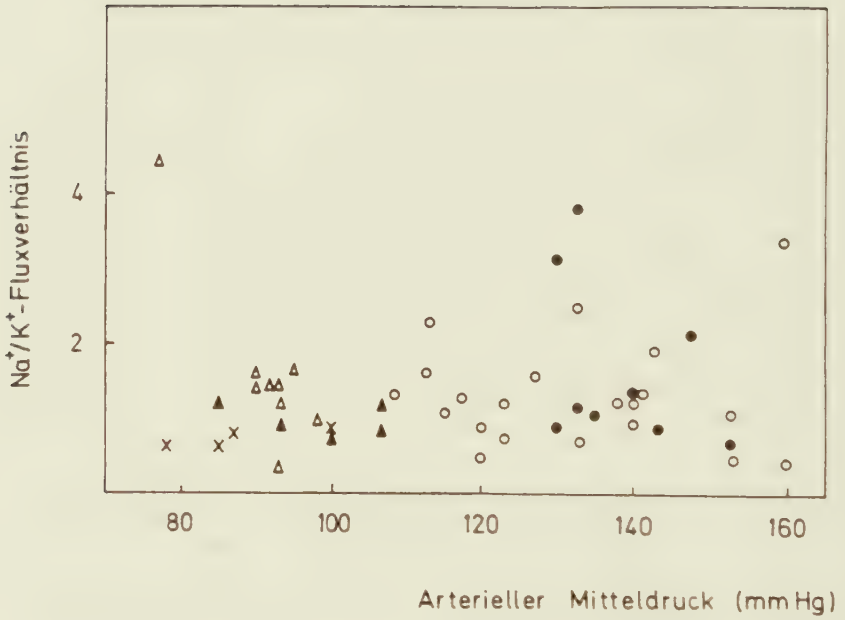


Abbildung 18:

Na⁺/K⁺-Fluxverhältnis in Abhängigkeit vom arteriellen Mitteldruck

○ = essentielle Hypertoniker

● = sekundäre Hypertoniker

× = Hypokaliämiepatienten

△ = N-

▲ = N+

Im Gegensatz zu Garay's Darstellung (27) sind in der Abbildung 18 die Na^+/K^+ -Fluxquotienten ohne Stufenbildung für ein bestimmtes Kollektiv aufgetragen, sie liegen, unabhängig vom arteriellen Mitteldruck in einem sehr breiten Bereich zwischen 2,5 und 0,5.

3.1.5. Untersuchung des Einflusses von Medikamenten und von Elektrolytstörungen auf die Versuchsmethode

Da die Patienten mit diuretika-induzierter Hypokaliämie als einzige Gruppe deutlich unterschiedliche Na^+/K^+ -Fluxquotienten gegenüber den normotonen Vergleichspersonen (N-) aufweisen, wäre eine Beeinflussung der Versuchsmethode durch Diuretika und insbesondere durch Furosemid, dessen Wirkung auf Transportsysteme seit längerem bekannt ist (26, 41, 51, 54, 70) gut denkbar. Deshalb wurden die Patienten mit essentieller und sekundärer Hypertonie hinsichtlich der medikamentösen Behandlung, der gemessenen Serumkaliumspiegel und der Nierenfunktion nochmals unterteilt und erneut mit den übrigen Gruppen (Hypokaliämie, N+ und N-) verglichen (Tabelle 4).

Da aber die so getrennten Kollektive nur noch aus einer geringen Anzahl von Probanden bestanden, fiel die ohnehin schon große Streuung noch mehr ins Gewicht. Es ließ sich kein signifikanter Unterschied mehr im Netto- Na^+ -Efflux feststellen, insbesondere nicht in den Untergruppen, die Diuretika einnahmen, dabei normo-, oder hypokaliämisch waren oder eine Niereninsuffizienz hatten.

Kollektiv	Netto-Na ⁺ Efflux	Netto-K ⁺ Influx	Na ⁺ /K ⁺ -Flux Verhältnis	n
<u>sekundäre Hypertonie</u>				
ohne Diuretikum (normokaliämisch)	3.99 ± 0.9	2.85 ± 1.4	1.80 ± 1.2	3
mit Diuretikum (normokaliämisch)	4.1 ± 1.0	2.53 ± 1.5	2.23 ± 1.5	3
mit Diuretikum Serum K ⁺ 2.7 mval/l- 3.7 mval/l	4.26 ± 0.7	4.10 ± 0.2	1.04 ± 0.1	3
mit Niereninsuffizienz und Diuretika xx	3.76 ± 0.8	3.36 ± 1.4	1.48 ± 1.1	4
<u>essentielle Hypertonie</u>				
ohne Medikamente (normokaliämisch)	4.09 ± 1.2	3.15 ± 1.6	1.62 ± 0.8	6
mit Antihypertensiva (normokaliämisch)	3.66 ± 1.0	3.83 ± 2.1	1.3 ± 1.1	6
mit Antihypertensiva und Diuretika (normokaliämisch)	4.65 ± 1.0	3.86 ± 1.0	1.28 ± 0.6	3
mit Niereninsuffi- zienz, x mit Antihypertensiva, mit Diuretika (n=3)	3.92 ± 1.5	3.86 ± 1.0	1.08 ± 0.5	4
<u>Hypokaliämie</u>	3.85 ± 1.1	5.60 ± 1.4	0.69 ± 0.1	4
Normoton ohne fam. Hypertonie	3.47 ± 1.0	2.74 ± 0.9	1.59 ± 1.1	9
Normoton mit fam. Hypertonie	3.21 ± 0.4	3.59 ± 1.1	0.94 ± 0.2	5

Tabelle 4: Angaben als Mittelwert ± S.D. in mmol/l Erythrocyten.

Das Kreatinin der Hypertoniepatienten mit Nierenfunktions-
störung lag zwischen 1,6 und 3,7 mg%.

x = Serumkalium bei drei Patienten im unteren Normbereich

xx = Zwei Patienten mit Serumkaliumwerten von 3,7 mg% und
ein Patient 3,2 mg%.

In der Untergruppe der sekundären Hypertoniker, die sich aus Patienten mit diuretischer Behandlung und dadurch bedingten grenzwertigen oder niedrigen Serumkaliumwerten zusammensetzte, zeigte sich wie im Hypokaliämiekollektiv ein gegenüber der Kontrollgruppe (N-) signifikant gesteigerter Netto- K^+ -Influx ($p = 0,002$). Bei denjenigen Patienten, die Diuretika einnahmen, und deren Serumkalium im Normbereich lag, ließ sich dieser vermehrte KaliumEinstrom nicht finden. Entsprechend dem signifikant veränderten K^+ -Influx, ergibt sich für diese Untergruppe ein niedriger Na^+/K^+ -Fluxquotient, ebenso für die Untergruppe der essentiellen Hypertoniker mit Niereninsuffizienz die auch überwiegend unter Diuretikatherapie standen und grenzwertige Serumkaliumspiegel hatten.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Erythrocyten von Patienten mit diuretika-induzierter Hypokaliämie unabhängig von einer Hochdruckerkrankung eine Abnahme des Na^+/K^+ -Fluxverhältnisses aufweisen, die von einem gesteigerten Netto- K^+ -Influx herrührt. Da bei dieser Versuchsmethode nach Garay et al. (28) kein g-Strophantin verwendet wurde, dürfte der gemessene K^+ -Influx im wesentlichen den von der Na^+/K^+ -Pumpe aktiv transportierten Anteil darstellen. Auch die von Erdmann et al. (19, 20, 21) erhobenen Befunde bei chronischer Hypokaliämie (Zunahme der (Na^++K^+) -ATPase-Aktivität, Vermehrung der Glykosidrezeptoren = Na^+/K^+ -Pumpmoleküle) sprechen für einen erhöhten KaliumEinstrom über das aktive Transportsystem.

	anfängliches Na^+ (mmol/l _E /h)	K^+ (mmol/l _E /h)	Netto- Na^+ -Efflux (mmol/l _E /h)	Netto- K^+ -Influx (mmol/l _E /h)	Na^+/K^+ -Flux- Verhältnis
vor Einnahme von Dytide H	6.9 ± 0.6	90.3 ± 9.7	3.51 ± 0.7	3.10 ± 0.6	1.17 ± 0.3
nach 3 Wochen Einnahme von Dytide II	6.8 ± 1.1	102.2 ± 6.1	3.09 ± 0.8	3.44 ± 0.6	0.92 ± 0.3
Signifikanz	$p = 0.9$	$p = 0.5$	$p = 0.8$	$p = 0.7$	$p = 0.6$

Tabelle 5:

Anfängliche Kationenkonzentration, Netto- Na^+ -Efflux, Netto- K^+ -Influx und Na^+/K^+ -Fluxquotient vor und nach Einnahme von Dytide H an den Erythrocyten einer normotonen Versuchsperson.

3.1.6. Untersuchung des Einflusses eines Diuretikums auf die Versuchsmethode an einem gesunden Probanden

An einer normotonen Kontrollperson wurde die Wirkung von einem Kombinationspräparat aus Triamteren und Hydrochlorothiazid (Dytide H, Fa. Röhm Pharma, 1x1 Tablette pro Tag über 3 Wochen) auf die Versuchsmethode überprüft.

Wie Tabelle 5 zeigt, ergab sich keine signifikante Änderung der einzelnen Parameter vor und nach Einnahme von Dytide H. Die Serumkaliumspiegel der Versuchsperson waren über den gesamten Untersuchungszeitraum im Normbereich.

3.1.7. Bestimmung der intraindividuellen Streuung der Versuchsmethode

Um die Reproduzierbarkeit und die Abweichung bei der Bestimmung des Na^+/K^+ -Fluxverhältnisses nach Garay et al. (28) zu überprüfen, führten wir an zwei Personen der Gruppe N+ die Untersuchung im Laufe eines Jahres mehrmals unter gleichen Bedingungen durch.

Die Einzelwerte sind in der Abbildung 19 angegeben. Die intraindividuelle Streuung war für den Netto- Na^+ -Efflux 20 % bzw. 26 %, für den Netto- K^+ -Influx 17 % bzw. 21 %, für den Na^+/K^+ -Fluxquotienten 28 % bzw. 30 %. Verglichen mit den Standardabweichungen innerhalb der einzelnen Kollektive aus Garay's Untersuchungen (28) ergibt sich die gleiche Streubreite, die jedoch in dieser Größenordnung eine klare Beurteilung der Ergebnisse in Zweifel zieht.

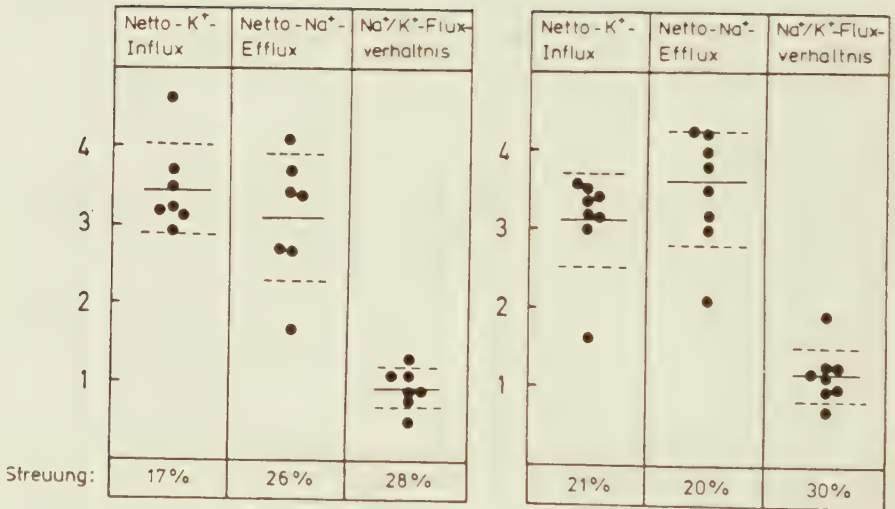


Abbildung 19:

Darstellung der intraindividuellen Streuung in der Versuchsmethode zur Bestimmung des Na⁺/K⁺-Fluxverhältnisses nach Garay et al. (28).

_____ = Mittelwert

----- = S.D.

Abschließend kann aufgrund der Befunde aus den Untersuchungen gesagt werden, daß sich mit der von Garay (28) vorgestellten Labormethode keine Unterscheidung zwischen essentiellen und sekundären Hypertonikern treffen läßt. In unseren Messungen zeigte sich dagegen, daß Erythrocyten bei diuretikabedingter Hypokaliämie den Netto- K^+ -Influx steigern. Da jedoch die Versuchsmethode eine Streuung bis zu 30 % beinhaltet, sind die Ergebnisse nicht ausreichend exakt, um daraus weitgehende Schlüsse zu ziehen.

3.2. Bestimmung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports nach Canessa et al. (5)

3.2.1. Die anfängliche Kationenkonzentration in den Erythrocyten und nach deren Beladung mit Lithium

Bei der Bestimmung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports werden die Erythrocyten nicht wie bei Garay et al. (28) in Cholinchloridlösung, sondern in einer vorwiegend aus $MgCl_2$ und Saccharose bestehenden isoosmotischen Waschlösung gewaschen. Aufgrund der unterschiedlichen Behandlung der Erythrocyten sind die gemessenen Natriumkonzentrationen um durchschnittlich 0,5 mmol/l Erythrocyten niedriger. Die geringe Änderung ist aber nicht signifikant. Die Kaliumkonzentrationen der in isoosmotischer Waschlösung präparierten Erythrocyten weisen eine größere Streuung auf als die mit Cholinchlorid behandelten roten Blutkörperchen. Insgesamt macht sich aber die Verwendung der unterschiedlichen Waschlösungen nicht in einer deutlichen Abweichung der Meßergebnisse bemerkbar (Tabellen 2 und 6).

Gruppe	Alter	RR syst. mmHg	RR diast. mmHg	anfänglich			nach Aufladen mit Li ⁺		
				Na ⁺ mmol/l _E	K ⁺ mmol/l _E	Na ⁺ mmol/l _E	K ⁺ mmol/l _E	Na ⁺ mmol/l _E	Li ⁺ mmol/l _E
N -	39 ± 15	125 ± 7	79 ± 6	8.2 ± 2.2	92.6 ± 25	3.9 ± 1.8	84.0 ± 7.7	7.8 ± 0.8	
N +	30 ± 8	126 ± 13	78 ± 7	6.8 ± 0.9	101.0 ± 7.6	3.0 ± 0.5	87.0 ± 7.3	7.3 ± 0.2	
essentielle Hypertonie	57 ± 15	182 ± 24	101 ± 16	7.7 ± 2.2	96.7 ± 10	3.8 ± 1.7	85.0 ± 6.2	7.7 ± 0.8	
sekundäre Hypertonie	47 ± 14	198 ± 20	111 ± 16	7.8 ± 2.3	99.1 ± 12.4	3.8 ± 1.6	86.8 ± 6.4	7.5 ± 1.0	
Hypokaliämie	44 ± 12	125 ± 19	78 ± 12	6.4 ± 0.9	99.6 ± 3.2	2.9 ± 0.5	87.4 ± 4.4	7.7 ± 1.1	

Tabelle 6: Angaben in Mittelwerten ± S.D.
Intrazelluläre Kationenkonzentration in den Erythrocyten vor und nach Aufladen mit Lithium (verwendete Waschlösung MgCl₂/Saccharose)

Wie unter 3.1.1. ausgeführt lassen sich auch mit dieser Methode keine Abweichungen in der Na^+ -Konzentration der Erythrocyten zwischen essentiellen Hypertonikern und normotonen Kontrollpersonen sowie sekundären Hypertonikern finden. Auch hier haben die Normotonen mit familiärer Hochdruckbelastung (N+) niedrigere intrazelluläre Na^+ -Werte als diejenigen ohne Hypertonieerkrankungen in ihren Familien (N-) ($p = 0,03$). Die Gruppe der Hypokaliämiepatienten fällt wiederum mit dem niedrigsten Na^+ -Gehalt in den Erythrocyten auf. Der Unterschied zum Normalkollektiv (N-) ist mit $p = 0,006$ deutlich signifikant. Die Kaliumkonzentrationen vor und nach Beladen der Erythrocyten mit Lithium weichen in den verglichenen Kollektiven nicht wesentlich voneinander ab. Der Natriumverlust der Erythrocyten nach der Aufladungsphase ist dagegen bei den Hypokaliämiepatienten am deutlichsten ausgeprägt ($p < 0,04$). Die Lithiumaufnahme war bei der Gruppe N+ signifikant niedriger als bei den essentiellen Hypertonikern und den Normotonen (N-), in den übrigen Gruppen $7,7 \pm 0,8$ S.D. mmol/l Erythrocyten.

3.2.2. Lithiumefflux in Na^+ -reiches und Na^+ -freies Medium (= Mg^{++} -Medium) und Na^+ - Li^+ -Gegentransport

Die Abbildungen 20, 21, 22 und 23 zeigen die Messungen des Li^+ -Efflux in Abhängigkeit von der Zeit einmal in Na^+ -reichem, ein andermal in Na^+ -freiem (= Mg^{++} -) Medium an den Erythrocyten je einer Person aus den untersuchten Kollektiven.

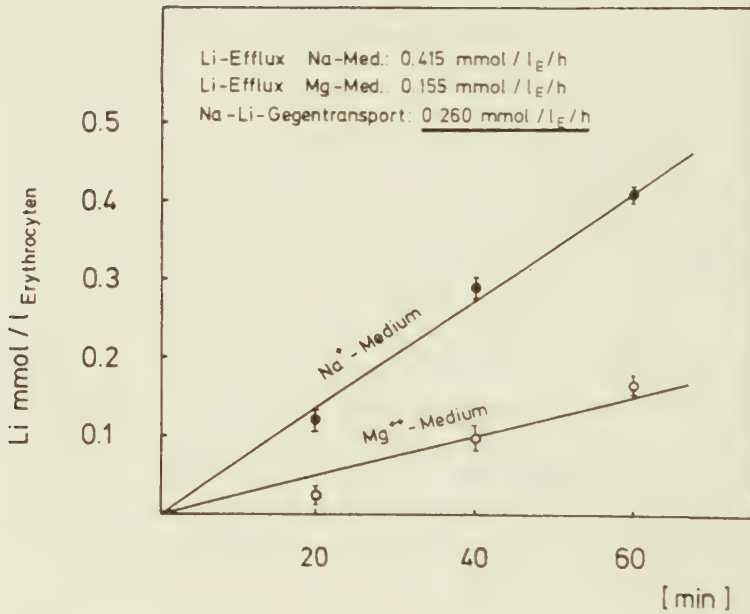


Abbildung 20:

Na⁺-Li⁺-Gegentransport an den Erythrocyten eines normo-tonen Probanden. (L.B.)

Jeder Punkt in den Abbildungen 20 bis 23 resultiert aus dem arithmetischen Mittel von dreifach-Werten.

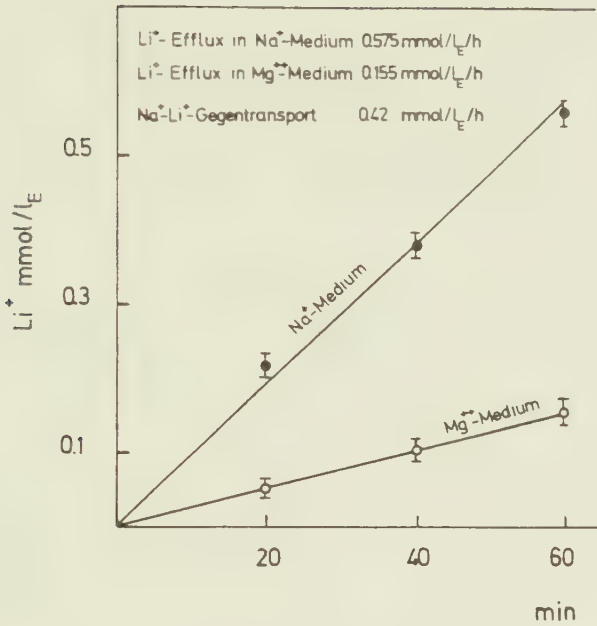


Abbildung 21:

Na⁺-Li⁺-Gegentransport an den Erythrocyten einer Patientin mit essentieller Hypertonie (H.B.).

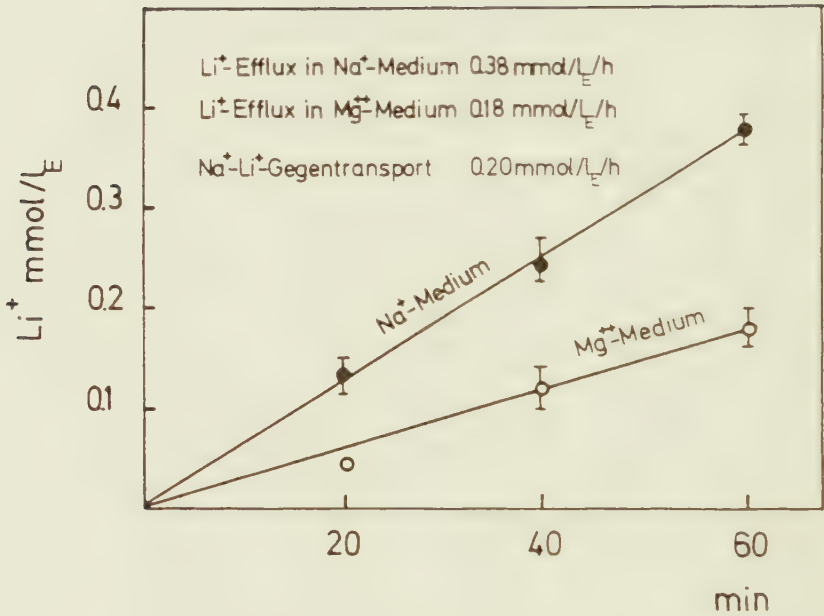


Abbildung 22:

Na^+-Li^+ -Gegentransport an den Erythrocyten einer Patientin mit sekundärer Hypertonie (S.D.).



Abbildung 23:

Na^+ - Li^+ -Gegentransport an den Erythrocyten einer Patientin mit diuretika-induzierter Hypokaliämie.

Übereinstimmend mit Canessa's Angaben (5) verlaufen beide Kurven linear über die angegebene Meßzeit. Die in Anwesenheit von Na^+ im Medium aus den Erythrocyten transportierte Menge Lithium ist bei der Patientin mit diuretika-induzierter Hypokaliämie um mehr als das Dreifache gegenüber der normotonen Vergleichsperson erhöht. Die Erythrocyten einer unbehandelten Patientin mit essentieller Hypertonie weisen auch einen höheren Li^+ -Efflux im Na^+ -Medium auf. Der Unterschied zur gesunden Kontrollperson beträgt jedoch nur 0,16 mmol/l Erythrocyten/h. Die Meßwerte der Patientin mit sekundärer Hypertonie sind im Vergleich zur Kontrollperson nicht auffallend verändert. Ursache der Hypertonie war bei dieser Patientin ein Phäochromocytom, die Nierenfunktion und das Serumkalium waren im Normbereich. Bis zum Zeitpunkt der Operation wurde sie mit Dibenztyran behandelt.

Die Mittelwerte der Kollektive sind in der Tabelle 7 und in den Abbildungen 24 und 25 auf den nächsten Seite zusammengestellt.

Der Lithiumefflux in das Mg^{++} -Medium ist für alle Kollektive statistisch nicht unterschiedlich, was mit den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von Canessa et al. (5) übereinstimmt. Nicht zu bestätigen ist dagegen ein signifikanter Unterschied des Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux ($p > 0.4$) und des Na^+ - Li^+ -Gegentransports ($p > 0.1$) zwischen essentiellen Hypertonikern und Normotensiven (N-). In der Tabelle 7 sind die Werte für die Gruppen der essentiellen und sekundären Hypertoniker annähernd gleich und von den Normotonen mit (N+) und ohne familiäre Hochdruckbelastung (N-) nicht signifikant verändert. Im Kollektiv N- werden die höchsten Werte für den Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux und damit auch für den Na^+ - Li^+ -Gegentransport von zwei Personen eingenommen, die mög-

Gruppe	Li ⁺ -Efflux in Na ⁺ -Medium	Li ⁺ -Efflux in Mg ⁺⁺ -Medium	Na ⁺ /Li ⁺ - Gegentransport	n
N -	0.53 ± 0.1 (± 0.02)	0.21 ± 0.08 (± 0.02)	0.32 ± 0.1 (± 0.02)	19
N +	0.46 ± 0.1 (± 0.04)	0.17 ± 0.08 (± 0.04)	0.29 ± 0.08 (± 0.04)	6
essentielle Hypertonie	0.57 ± 0.2 (± 0.04)	0.20 ± 0.06 (± 0.01)	0.37 ± 0.1 (± 0.02)	33
sekundäre Hypertonie	0.60 ± 0.2 (± 0.05)	0.21 ± 0.06 (± 0.01)	0.39 ± 0.1 ± 0.02)	18
Hypokaliämie	0.90 ± 0.2 (± 0.07)	0.26 ± 0.1 (± 0.04)	0.64 ± 0.2 (± 0.07)	8
	x		xx	

Tabelle 7: Li⁺-Efflux in Na⁺- bzw. Mg⁺⁺-Medium und Na⁺-Li⁺-Gegentransport
Angaben als Mittelwert ± S.D. und (± S.E.M.) in mmol/l Erythrocyten für die unter-
suchten Gruppen. x ≈ p=0.001; xx = p=0.002

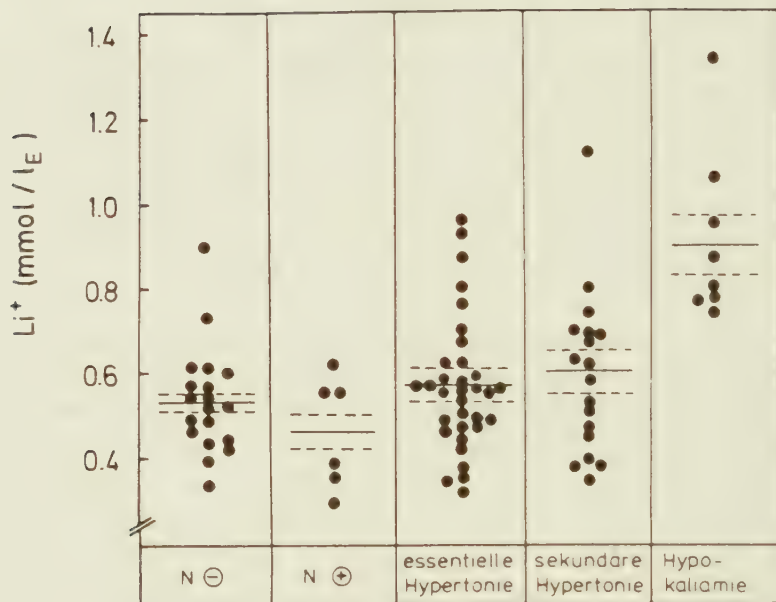


Abbildung 24:

Natriumabhängiger Li^+ -Efflux bei den untersuchten Kollektiven

———— = Mittelwert

----- = S.E.M.

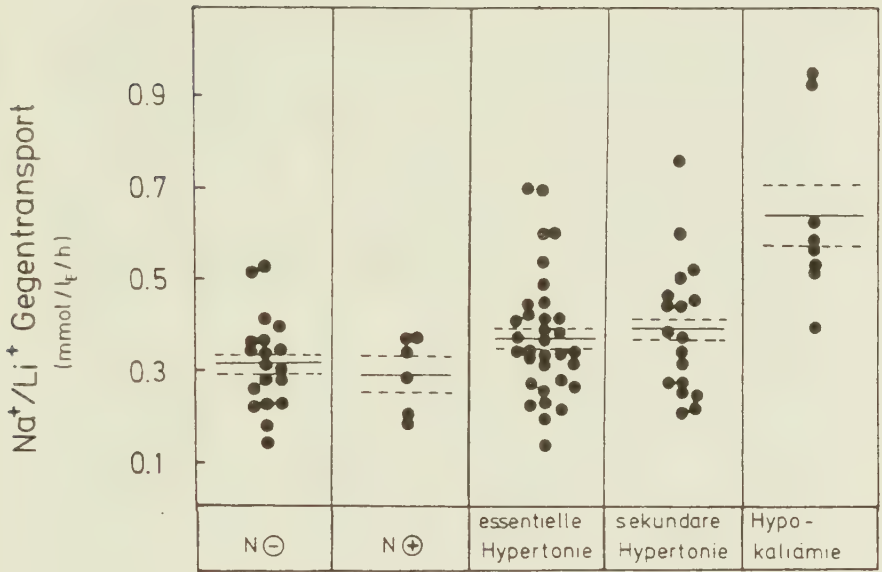


Abbildung 25:

Na⁺-Li⁺-Gegentransport an den Erythrocyten bei den verschiedenen Kollektiven.

———— = Mittelwert

----- = S.E.M.

licherweise dieser Gruppe nicht eindeutig zugerechnet werden können. Der Proband (Nr. 76, Tabelle 1) mit einem Na^+ - Li^+ -Gegentransport von 0,53 mmol/l Ery/h, hatte ein Bronchialkarzinom, sodaß man an eine Transportstörung als Ausdruck des präfinalen Krankheitsstadiums denken könnte. Welt (65) und Parker und Welt (52) diskutierten bereits das sogenannte "Sick-Cell-Syndrome" mit reduzierter Aktivität der Na^+ / K^+ -Pumpe (1.3.7.) bei Schwerkranken unter diesem Gesichtspunkt.

Der zweite Proband (Nr. 77, Tabelle 1) mit einem Na^+ - Li^+ -Gegentransport von 0,52 mmol/l Ery/h konnte eine Hochdruckerkrankung seines bereits verstorbenen Vaters nicht sicher ausschließen.

Werden nun beide Versuchspersonen im Kollektiv N- nicht berücksichtigt, ergibt sich ein Durchschnittswert von 0,50 mmol/l Ery/h für den Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux und 0,29 mmol/l Ery/h für den Na^+ - Li^+ -Gegentransport (siehe dazu auch Tabelle 8). Eine Veränderung in der Beurteilung der Kollektive ergibt sich jedoch nicht für Tabelle 7.

Eine gesonderte Stellung nehmen die Hypokaliämiepatienten ein, deren durchschnittlicher Li^+ -Efflux in Na^+ -Medium mit $0,90 \pm 0,2$ S.D. mmol/l Ery/h und deren Na^+ - Li^+ -Gegentransport mit $0,64 \pm 0,2$ S.D. mmol/l Ery/h deutlich gegenüber allen anderen Kollektiven erhöht sind. Die Signifikanz zum Normalkollektiv N- ist mit $p = 0,001$ bzw. $p = 0,002$ eindeutig.

3.2.3. Untersuchung des Einflusses von Medikamenten und Elektrolytstörungen auf die Bestimmung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports

Da der überwiegende Teil der Hypertoniepatienten bereits Antihypertensiva und/oder Diuretika vor diesen Untersuchungen eingenommen hatte, wurde durch eine Unterteilung der Kollektive, wie unter 3.1.5., versucht, einen eventuellen Einfluß von Pharmaka und Elektrolytstörungen auf die Versuchsmethode nach Canessa et al. (5) herauszufinden. Tabelle 8 zeigt die Durchschnittswerte $\pm$ S.E.M. für den Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux und den Na^+ - Li^+ -Gegentransport in mmol/l Ery/h. Der Li^+ -Efflux in Na^+ -freies (= Mg^{++} -) Medium wurde, da er für alle Gruppen unverändert war, nicht nochmals berücksichtigt. Vergleicht man die Untergruppe der sekundären Hypertoniker, die nur Antihypertensiva erhielt, mit derjenigen, die zusätzlich Diuretika einnahm, so fällt eine signifikante Änderung im Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux und Na^+ - Li^+ -Gegentransport auf ($p = 0,008$ bzw. $p = 0,02$). Noch deutlicher wird der Unterschied zu der Gruppe, die durch die diuretische Medikation noch niedrige Serumkaliumspiegel hatte ($p = 0,008$ bzw. $p = 0,01$). Die vier Patienten, bei denen eine Nierentransplantation durchgeführt worden war, zeigen ebenfalls gegenüber der ersten Untergruppe mit $p = 0,005$ signifikant höhere Werte. Dazu ist jedoch hinzuzufügen, daß alle vier bei normalem Serumkalium unter Lasixtherapie standen. Die Patienten mit sekundärer Hypertonie und Niereninsuffizienz, wovon sechs diuretisch behandelt wurden, sind im Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux ($0,55 \pm$ S.E.M.) höher als die sekundären Hypertoniker ohne diuresefördernde Medikamente, der Unterschied stellt sich allerdings mit $p = 0,05$ nicht sehr deutlich dar.

	Kollektiv	Li ⁺ -Efflux in Na ⁺ -Medium mmol/l Ery/h	Na ⁺ /Li ⁺ -Gegen- transport mmol/l Ery/h	n
sekundäre Hypertonie (alle mit Antihypertensiva)	Antihypertensiva ohne Diuretika (normokaliämisch)	0.42 ± 0.04	0.25 ± 0.04	4
	mit Diuretika (normokaliämisch)	0.58 ± 0.04	0.37 ± 0.03	8
	mit Diuretika (Serum K ⁺ im unteren Normbereich bzw. hypokaliämisch)	0.76 ± 0.09	0.51 ± 0.07	6
	mit Niereninsuffizienz (mit Diuretika n=6)	0.55 ± 0.05	0.35 ± 0.04	8
	mit Nierentransplantat (alle mit Diuretika)	0.63 ± 0.09	0.41 ± 0.04	4
	ohne Medikamente	0.63 ± 0.05	0.42 ± 0.04	6
essentielle Hypertonie	mit Antihypertensiva (normokaliämisch)	0.54 ± 0.05	0.35 ± 0.05	9
	mit Antihypertensiva und Diuretika (normokaliämisch)	0.58 ± 0.06	0.39 ± 0.05	12
	mit Niereninsuffizienz (Diuretika + Antihyperten- siva, normokaliämisch)	0.46 ± 0.04	0.28 ± 0.04	5
	Hypokaliämie	0.90 ± 0.07	0.64 ± 0.07	8
	N -	0.53 ± 0.02	0.32 ± 0.02	19
	^x N -	0.50 ± 0.02	0.29 ± 0.02	17
	N +	0.46 ± 0.04	0.29 ± 0.04	6

Tabelle 8:

Mittelwerte ± S.E.M. Das Kollektiv N- wurde einmal mit (N-), einmal ohne den 2 Versuchspersonen^x (N-) angegeben, deren Zugehörigkeit zu dieser Gruppe nicht eindeutig geklärt werden konnte.

Im Kollektiv der essentiellen Hypertoniker fallen die sechs unbehandelten Patienten durch den höchsten Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux und Na^+ - Li^+ -Gegentransport auf. Ein statistisch signifikanter Unterschied besteht allerdings nur zu denjenigen mit Niereninsuffizienz und diuretischer Behandlung. Das Serumkalium war bei allen essentiellen Hypertonikern normal. Die Versuchsergebnisse der essentiellen Hypertoniker, die Antihypertensiva allein oder in Kombination mit einem Diuretikum einnahmen, waren im Durchschnitt gegenüber den Unbehandelten niedriger, statistisch war die Änderung aber nicht signifikant.

Die Arbeitsgruppe von Canessa et al. (5) berichtete über einen um mehr als das Doppelte erhöhten Na^+ - Li^+ -Gegentransport bei essentiellen Hypertonikern gegenüber Normotonen ohne familiäre Hochdruckbelastung und Patienten mit sekundärer Hypertonie. Dabei bestand nur eine sehr geringe Überlappung zwischen den 36 essentiellen Hypertonikern und den gesunden Vergleichspersonen.

Werden wie in Abbildung 26 nur Kollektive der Hypertoniker in den Vergleich miteinbezogen, die entweder unbehandelt waren (6 essentielle H.) oder, wie die sekundären, nur Antihypertensiva erhielten, so zeigt sich jetzt ein signifikanter Unterschied von essentiellen Hypertonikern zu Normotensiven (N-) und sekundären Hypertonikern ($p \leq 0,03$) (vgl. dazu Tabelle 7 und die Abbildungen 24 und 25). Allerdings ist der Na^+ - Li^+ -Gegentransport von $0,42 \pm 0,04$ S.E.M. mmol/l Ery/h bei den essentiellen Hypertonikern nicht doppelt so hoch wie bei N- und sekundären Hypertonikern, sondern lediglich um etwa die Hälfte gesteigert. Zudem besteht, wie aus Abbildung 26 hervorgeht, zu allen anderen Kollektiven

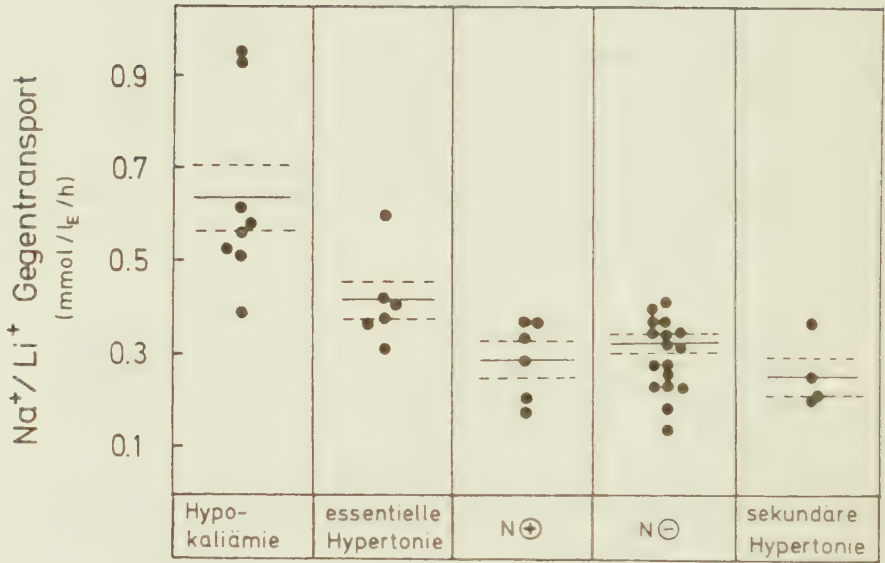


Abbildung 26:

Na⁺-Li⁺-Gegentransport bei unbehandelten essentiellen Hypertonikern, bei sekundären Hypertonikern, die keine Diuretika einnahmen, bei Hypokaliämiepatienten und Normotensiven mit (N⁺) und ohne (N⁻) familiäre Hochdruckbelastung. Bei N⁻ wurden die zwei Versuchspersonen, deren Zugehörigkeit zu dieser Gruppe möglicherweise nicht eindeutig war, nicht berücksichtigt.

_____ = Mittelwert

----- = S.E.M.

außer zu den Hypokaliämiepatienten eine deutliche Überlappung, die keine gesicherte Abgrenzung ermöglicht. Eine Bestätigung dieser Ergebnisse wäre jedoch durch ein größeres Kollektiv unbehandelter essentieller Hypertoniker notwendig.

Ein gesteigerter Na^+ - Li^+ -Gegentransport bei normotonen Versuchspersonen mit familiärer Hochdruckbelastung (N+) ließ sich nicht feststellen, ihre Werte waren mit den Kontrollpersonen (N-) gleich.

Insgesamt kann aufgrund der Ergebnisse in den nach obigen Gesichtspunkten unterteilten Hypertoniegruppen gesagt werden, daß insbesondere Diuretika die Aussage der Versuchsmethode verändern. Als Beispiel sind hier nochmals die sekundären Hypertoniker mit und ohne diuretische Behandlung zu nennen. Diuretika in Zusammenhang mit niedrigen oder grenzwertigen Serumkaliumspiegeln ($\text{K}^+ \leq 3,7 \text{ mval/l}$) liefern auch hier falsch hohe Werte für Na^+ -abhängigen Li^+ -Efflux und Na^+ - Li^+ -Gegentransport. Dies bedeutet, daß normotone Patienten und Patienten mit sekundärer Hypertonie von essentiellen Hypertonikern mit dieser Labormethode nicht zu unterscheiden sind, sobald eine Elektrolytstörung im Sinne einer Hypokaliämie vorliegt.

3.2.4. Untersuchung der Wirkung eines Diuretikums auf die Bestimmung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports an einem gesunden Probanden

An der gleichen gesunden Versuchsperson wie unter 3.1.5. wurde die Wirkung von Dytilide H (Triamteren + Hydrochlorothiazid) gleichzeitig auch auf die Bestimmung

nach Aufladen mit Li^+ mmol/lE					
Na^+	K^+	Li^+	Li^+ -Efflux in Na^+ -Medium	Li^+ -Efflux in Mg^{++} -Medium	Na^+/Li^+ - Gegentransport
3.7 ± 0.6	84.9 ± 1.4	8.3 ± 0.3	0.67 ± 0.06	0.18 ± 0.03	0.49 ± 0.07
3.7 ± 0.2	83.0 ± 4.0	9.1 ± 0.3	0.70 ± 0.08	0.19 ± 0.04	0.51 ± 0.06

Tabelle 9:

Bestimmung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports sowie des Li^+ -Efflux in Na^+ -Medium und Mg^{++} -Medium vor und nach Einnahme von Dytide H (1x1 Tablette pro Tag über 3 Wochen) an denselben Probanden.
Angaben als Mittelwerte $\pm$ S.D.

p = 0,7

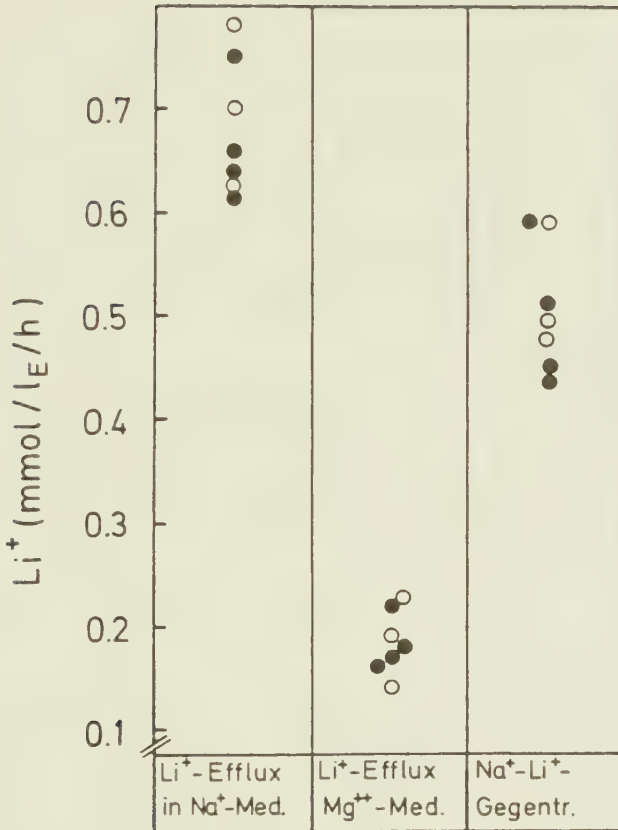


Abbildung 27:

Natriumabhängiger und natriumunabhängiger Li^+ -Efflux sowie Na^+ - Li^+ -Gegentransport vor und nach Einnahme von Dytide H (1x1 Tablette pro Tag über 3 Wochen).

● = vor Einnahme

○ = nach Einnahme von Dytide H

des Na^+ - Li^+ -Gegentransports überprüft. Bei der Kontrollperson, deren Na^+ - Li^+ -Gegentransport mit $0,49 \pm 0,07$ S.D. mmol/l Ery/h über dem Durchschnitt lag, handelte es sich um jene, deren familiäre Hochdruckbelastung nicht ausgeschlossen werden konnte. Inwieweit dieser erhöhte Parameter auf eine mögliche erbliche Belastung oder aber auf die Streuung in der Versuchsmethode zurückzuführen ist, läßt sich nicht entscheiden, da sich die sechs Normotensiven mit gesicherter familiärer Hochdruckbelastung vom Kontrollkollektiv N- nicht unterschiedlich verhielten.

Während und nach der dreiwöchigen Einnahme von 1 Tablette Dytide H pro Tag blieb der Na^+ - Li^+ -Gegentransport unverändert (Tabelle 9 und Abbildung 27). Der Serumkaliumspiegel lag in der Untersuchungszeit im Normbereich, was auf die kaliumsparende Komponente von Triamteren zurückzuführen sein dürfte.

3.2.5. Die intraindividuelle Streuung in der Versuchsmethode nach Canessa et al. (5) zur Bestimmung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports

Anhand mehrmaliger Bestimmungen des Na^+ - Li^+ -Gegentransports an den Erythrocyten einer Normalperson wurden im Zeitraum eines Jahres Reproduzierbarkeit und individuelle Streuung der Versuchsmethode ermittelt (Tabelle 10 und Abbildung 28). Mit 54% war die Streubreite des im Mg^{++} -Medium gemessenen Li^+ -Efflux am größten. Dieser Parameter wurde aber nicht als Vergleichskriterium in den verschiedenen Kollektiven herangezogen, da er für alle Gruppen gleich groß war. Die Abweichung des Na^+ -ab-

nach Aufladen mit Li^+

mmol/l $\bar{\text{e}}$

Na^+	K^+	Li^+	Li^+ -Efflux in Na^+ -Medium	Li^+ -Efflux in Mg^{++} -Medium	Na^+/Li^+ - Gegentransport
3.3	98.5	6.8	0.33	0.14	0.19
2.7	97.5	7.9	0.26	0.10	0.16
3.0	108.7	6.7	0.35	0.20	0.15
3.0	92.0	7.0	0.28	0.09	0.19
3.2	96.0	7.8	0.22	0.04	0.18

Mittelwert $\pm$ S.D. und Streuung in %:

3.04	98.5	7.2	0.29 ± 0.05	0.11 ± 0.06	0.17 ± 0.02
± 0.2	± 6.2	± 0.6			
6%	6%	8%	17%	54%	12%

Tabelle 10:

Mehrmalige Bestimmung der Li^+ -Fluxe in Na^+ - und Mg^{++} -Medium und des Na^+/Li^+ -Gegen-transportes an den Erythrocyten der gleichen Versuchsperson zur Untersuchung der intraindividuellen Streuung.

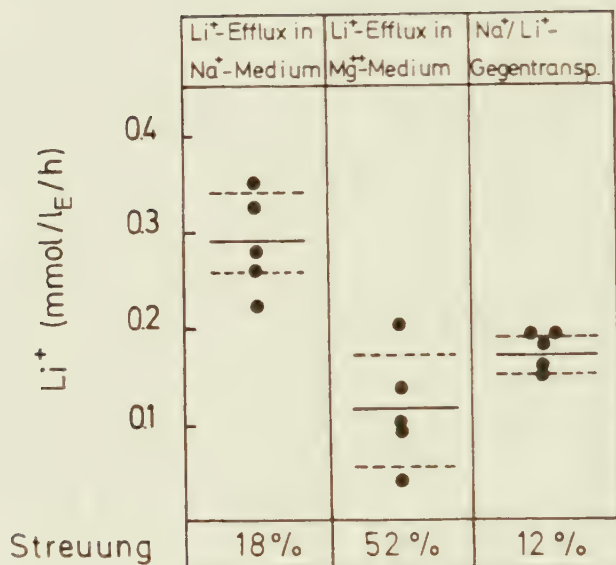


Abbildung 28:

Intraindividuelle Streuung in der Versuchsmethode zur Bestimmung des Na⁺-Li⁺-Gegentransportes.

— = Mittelwert

----- = S.D.

hängigen Li^+ -Efflux und des Na^+ - Li^+ -Gegentransports waren mit 17% bzw. 12% in einem durchaus akzeptablen Bereich.

3.3. Bestimmung der Glykosidrezeptoren mit ^3H -g-Strophanthin nach Erdmann et al. (20)

Einige Autoren berichteten über eine vermehrte ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase-Aktivität in den Erythrocyten von Hochdruckkranken, andere dagegen fanden eine unveränderte oder sogar verminderte Enzymtätigkeit (19, 53, 62, 63). Da die maximalen ^3H -Ouabain-Bindungsstellen die Anzahl der ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase-Moleküle darstellen (17, 19), sollte mit der Bestimmung der Glykosidrezeptoren an den Erythrocyten von Normotensiven, Hypertonikern und Hypokaliämiepatienten geklärt werden, ob der aktive Transport über die Na^+/K^+ -Pumpe durch eine Zunahme der Pumpmoleküle (= Glykosidrezeptoren) bei diesen Erkrankungen verändert ist.

3.3.1. Anzahl der Glykosidrezeptoren in den untersuchten Kollektiven

In der Kontrollgruppe N- lag die durchschnittliche Zahl der Glykosidbindungsstellen pro Erythrocyt bei 393 ± 114 ($\bar{x} \pm \text{S.D.}$). Für die 30 Hypertoniepatienten ließen sich gegenüber den gesunden Normalpersonen keine erhöhten Rezeptoren feststellen (465 ± 217), ($p = 0,17$). Die ^3H -Ouabainbindungsstellen der sekundären Hypertoniker waren mit 427 ± 220 ebenfalls im gleichen Bereich

	N -	N +	ess. Hyper- tonie	sek. Hyper- tonie	Hypo- kaliämie
Anzahl der Glykosid- rezeptoren (Mittelwert ± S.D.)	393 ± 114 n = 13	515 ± 327 n = 4	465 ± 217 n = 30	427 ± 220 n = 15	692 ± 406 (n = 9) 813 ± 378 (n = 7)

Tabelle 11:

Glykosidbindungsstellen als Durchschnittswerte ± S.D. in den verschiedenen Kollektiven.

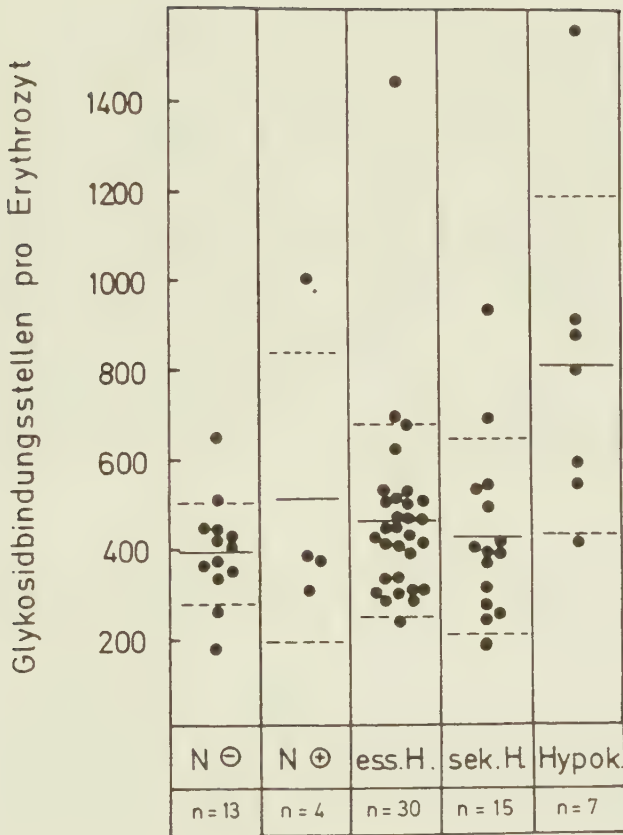


Abbildung 29:

Darstellung der Glykosidbindungsstellen in den untersuchten Kollektiven.

— = Mittelwert

----- = S.D.

($p = 0,8$). Die Hypokaliämiepatienten hatten durchschnittlich die höchsten Bindungsstellen (692 ± 406). Die große Streubreite und deutliche Überlappung zu den anderen Gruppen macht den Unterschied mit $p = 0,06$ zum Normalkollektiv nicht klar genug. Allerdings war bei zwei Patientinnen die Dauer der Hypokaliämie nicht genau zu eruieren. Akute Hyperkaliämien führen, wie Erdmann et al. (51) zeigen konnten, nicht zu einer Zunahme der Glykosidrezeptoren. Werden deshalb diese beiden Patientinnen nicht berücksichtigt, ergibt sich für das Hypokaliämiekollektiv ein Durchschnittswert von 813 ± 378 ^3H -Ouabainbindungsstellen pro Erythrocyt. Die Differenz zum Normalkollektiv N- wird jetzt mit $p = 0,025$ wesentlich deutlicher (Tabelle 11 und Abbildung 29).

3.3.2. Beeinflussung der ^3H -Ouabainbindungsstellen bei Hypertoniepatienten durch Diuretika

Erdmann et al. (19) hatten eine höhere Anzahl von Glykosidbindungsstellen an den Erythrocyten von Hypertonikern (essentiell und sekundär) unter diuretischer Therapie festgestellt. Ebenso ist eine gesteigerte Rezeptoranzahl bei Hypokaliämie seit längerem bekannt (7, 19, 21).

Aufgrund dessen wurden die Hochdruckpatienten bezüglich diuretischer Medikation und gemessenem Serumkalium wie in Tabelle 12 unterteilt. Es ist zu ersehen, daß die Anzahl der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -Pumpmoleküle unbehandelter essentieller Hypertoniker sowie sekundärer und essentieller Hypertoniker mit rein antihypertensiver Therapie von dem Kontrollkollektiv N- statistisch nicht verschieden ist.

	ohne Diuretikum	mit Diuretikum	mit Diuretikum	mit Diuretikum	mit Diuretikum u. Kreatinin 2.7 ± 0.5	mit Diuretikum u. Nierentranspl.	N -
Anzahl der Glykosidrezept. ± S.D.	370 ± 180	457 ± 215	410 ± 200	350 ± 114	520 ± 295	393 ± 114	
n	3	8	4	6	4	13	

Serum K ⁺ (mval/l)	4.4 ± 0.1	4.7 ± 0.8	3.5 ± 0.1	4.9 ± 0.8	4.4 ± 0.6		
----------------------------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	--	--

essentielle Hypertonie

	unbehandelt	mit Diuretikum	mit Diuretikum u. Kreatinin 2.3 ± 0.7	mit Antihyper- tensiva	N -
Anzahl der Glykosidrezept. ± S.D.	445 ± 131	541 ± 409	548 ± 65	421 ± 132	393 ± 114
n	7	7	3	11	13
Serum K ⁺	4.1 ± 0.2	4.1 ± 0.2	4.2 ± 0.9	4.2 ± 0.2	

Tabelle 12:

Anzahl der Glykosidbindungsstellen (Mittelwerte ± S.D.) bei essentiellen und sekundären Hypertonikern mit und ohne diuretische Medikation unter Berücksichtigung des Serumkaliumsiegels.

Unveränderte ^3H -Ouabainbindungsstellen fanden auch Erdmann et al. (19) bei unbehandelter Hypertonie.

Unter Diuretikagabe scheinen die Glykosidrezeptoren bei beiden Hochdruckformen, wie die Mittelwerte in Tabelle 12 zeigen, anzusteigen. Eine statistische Relevanz ergibt sich bei ausgeprägter Streuung der kleinen Kollektive lediglich für die essentiellen Hypertoniker mit diuretischer Behandlung und Niereninsuffizienz ($p = 0,01$), da in dieser Gruppe die Standardabweichung mit ± 65 am geringsten war.

Eine Erklärung für die trotz Diuretikatherapie im Normbereich liegenden Glykosidbindungsstellen im Kollektiv der niereninsuffizienten sekundären Hypertoniker könnten die höheren Serumkaliumwerte sein. Wenn bei Hypokaliämie eine de novo Synthese der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) \text{-ATPase}$ stattfindet, wie Erdmann et al. (19) dies bereits diskutierten, wäre auch eine gegenteilige Wirkung auf die Enzymsynthese bei Hyperkaliämie denkbar.

Eine nähere Beurteilung der Glykosidbindungsstellen bei den vier sekundären Hypertoniepatienten, deren Serumkalium im unteren Grenzbereich lag ($\text{K}^+ 3,5 \pm 0,1 \text{ mval/l}$), ist aufgrund der wenigen Versuchspersonen und der großen Streuung in dieser kleinen Gruppe nicht weiter möglich.

3.3.3. Bestimmung der ^3H -Ouabainbindungsstellen an den Erythrocyten eines gesunden Probanden vor und nach der Einnahme eines Diuretikums

Da bei diuretika-induzierter Hypokaliämie und bei diuretisch behandelten Hypertoniepatienten vermehrte Glykosidbindungsstellen gemessen wurden, sollte untersucht

werden, ob durch die Einnahme eines Diuretikums bei einer gesunden Versuchsperson die Glykosidrezeptoren an der Erythrocytenmembran ansteigen.

An den roten Blutkörperchen desselben Probanden wie unter 3.1.6. und 3.2.4. wurden vor und nach der dreiwöchigen Einnahme von täglich einer Tablette Dytide H (Triamteren und Hydrochlorothiazid) die ^3H -Ouabainbindungsstellen bestimmt. Wie bereits erwähnt, war der Serumkaliumspiegel der Versuchspersonen unverändert im Normbereich während der gesamten Untersuchungszeit.

Zu Anfang des Experimentes wurden die Glykosidrezeptoren mit 373 ± 52 S.D. ($n = 8$) gemessen. Nach der dreiwöchigen Einnahme des Medikamentes waren es 320 Bindungsstellen pro Erythrocyt vier Monate nach Diuretikaeeinnahme wurden 468 Glykosidbindungsstellen bestimmt.

Erwartungsgemäß blieben die Rezeptoren während der dreiwöchigen Tabletteneinnahme unverändert. Die vier Monate später gemessenen ^3H -Ouabainbindungsstellen sind gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Die Zeitspanne von vier Monaten bis zum Auftreten der Veränderung (mittlere Erythrocytenlebensdauer 100 bis 120 Tage) würde ebenfalls zur vermehrten Synthese von $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-Pumpmolekülen}$ durch Einwirken des Diuretikums passen. Aufgrund eines einzelnen Wertes kann jedoch lediglich die Vermutung angestellt werden.

3.3.4. Intraindividuelle Streuung bei der Bestimmung der ^3H -Ouabainbindungsstellen an Humanerythrocyten nach Erdmann (20)

Reproduzierbarkeit und intraindividuelle Streuung der Versuchsmethode zur Bestimmung der Glykosidrezeptoren

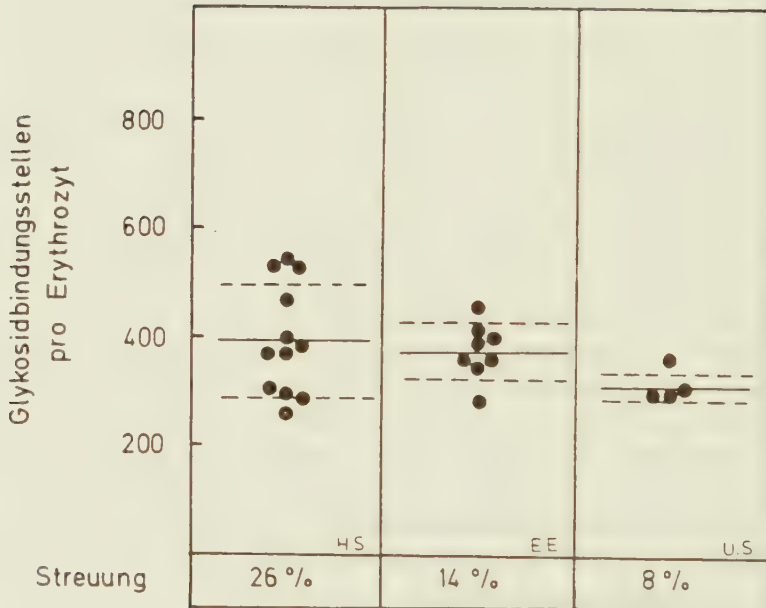


Abbildung 30:

Darstellung der intraindividuellen Streuung in der Versuchsmethode zur Bestimmung der Glykosidbindungsstellen an drei gesunden Versuchspersonen.

_____ = Mittelwert

----- = S.D.

nach Erdmann (20) wurden an drei gesunden Probanden überprüft. Unter identischen Bedingungen wurden im Laufe eines Jahres mehrmals die ^3H -Ouabainbindungsstellen gemessen. In Abbildung 30 sind die Einzelergebnisse graphisch dargestellt. Die Streuung betrug 26%, 14% und 8% (im Durchschnitt 16%), damit erwies sich die Versuchsmethode als genügend zuverlässig.

4. DISKUSSION

Im Bemühen, der Pathogenese der Hypertonie näher zu kommen, konnte bereits vor 20 Jahren ein Zusammenhang von Störungen im Natriumhaushalt mit der Hochdruckerkrankung aufgezeigt werden (Losse et al. (46)). Untersuchungen an Elektrolyttransportmechanismen, vornehmlich an den leicht zugänglichen menschlichen Erythrocyten, ergaben z. T. unterschiedliche Ergebnisse. So fand die Arbeitsgruppe von Garay et al. (26, 27, 28) einen verminderten Na^+/K^+ -Fluxquotienten bei essentiellen Hypertonikern und deren Familienangehörigen, der auf einen reduzierten Na^+ -Efflux bei gestörtem Na^+-K^+ -Co-Transport zurückzuführen sein soll. Canessa et al. (5) berichteten über 2-3fach erhöhte Na^+-Li^+ -Gegentransportwerte bei Patienten mit demselben Krankheitsbild. Schließlich wurde auch eine gesteigerte (Na^++K^+) -ATPase-Aktivität von Wambach (63) beschrieben, die bei gesteigertem Na^+ -Influx seinerseits als Anpassungsmechanismus der Na^+/K^+ -Pumpe interpretiert wurde. In den Arbeiten von Erdmann et al. (19, 20) konnte dies nicht bestätigt werden, jedoch wurde eine Aktivitätssteigerung dieses Enzyms bei Hypokaliämie beobachtet.

Offensichtlich haben verschiedene Autoren verschiedene Transportsysteme überprüft und sind deshalb möglicherweise zu unterschiedlichen Ergebnissen und Schlußfolgerungen gelangt. In dieser Arbeit sollten nun der Na^+/K^+ -Fluxquotient, der Na^+-Li^+ -Gegentransport und die Glykosidrezeptoren bei denselben Patienten untersucht werden, um ouabain-sensible und ouabain-insensible Rationenfluxe bei Hochdruckerkrankungen und Elektrolytstö-

rungen zu beurteilen. Ferner sollten zusätzlich die angewandten Versuchsmethoden nach Garay et al. (28) und Canessa et al. (5) daraufhin überprüft werden, ob sie als laborchemischer Test zur Differenzierung von essentieller Hypertonie und sekundärer Hypertonie geeignet wären.

In unseren Na^+ - K^+ -Fluxmessungen an Na^+ -beladenen und K^+ -verarmten Erythrocyten nach der Methode von Garay et al. (28) konnten wir deren Ergebnisse nicht bestätigen. Zwar wären die Werte für den Netto- Na^+ -Efflux des gesunden Kontrollkollektivs (N-) mit 3,47 mmol/l/h mit Garays Efflux (3,3 mmol/l/h) beinahe gleich, für den Netto K^+ -Influx ermittelten wir jedoch höhere Werte (2,74 mmol/l/h gegenüber 1,4 mmol/l/h). Ein signifikanter Unterschied in den Na^+/K^+ -Fluxquotienten ließ sich weder bei den essentiellen Hypertonikern noch bei den Normotonen mit familiärer Hochdruckbelastung nachweisen. Auch konnten wir in diesen beiden Gruppen keinen reduzierten Na^+ -Ausstrom oder einen gesteigerten K^+ -Einstrom finden, der wie von Garay et al. (27, 28) berichtet wurde, in enger Korrelation zum erhöhten arteriellen Mitteldruck stehen soll (3.1.4.).

Abgesehen von den unsererseits nicht zu bestätigenden Ergebnissen, erscheint uns die Versuchsmethode selbst für einen routinemäßig durchzuführenden Labortest als zu aufwendig. Bereits das Aufladen der Erythrocyten mit Natrium, das eine Inkubationszeit von 20 Stunden beansprucht, erwies sich in mehreren Experimenten trotz konstanter Versuchsbedingungen als schwierig, da nicht immer eine ausreichende Natriumkonzentration in den Erythrocyten erreicht werden konnte. Über ähnliche Pro-

bleme berichtete K.-H. Gless von der Universität Heidelberg auf der 5. Wissenschaftlichen Tagung der Deutschen Liga zur Bekämpfung des hohen Blutdrucks. Auch in seinen Untersuchungen über den Furosemid- und Ouabain-sensiblen Kationentransport an Erythrocyten essentieller Hypertoniker (37) war eine Natriumbeladung nach der Garay'schen Methode (28) nicht immer gelungen.

Ferner ist unklar, inwieweit die im Na^+ -ladenden Medium enthaltene quecksilberhaltige Substanz PCMBs die Erythrocytenmembran schädigen könnte. Nach Garrahan und Rega (35) kommt die Membranpermeabilitätssteigerung durch Bindung von PCMBs an die Sulfhydrylgruppen der Erythrocytenmembran zustande. Der aktive Transport kann dann nicht mehr ablaufen, die gesamten Ionenfluxe bewegen sich nur noch passiv entlang den elektrochemischen Konzentrationsgradienten über die vermehrt durchlässige Membran. Unkontrollierte Zunahme der Zellwandpermeabilität durch hohe Dosen von PCMBs kann die Erythrocyten irreversibel schädigen und zur Hämolyse führen (Hämolyse bei 0,1 mM PCMBs von 2 - 5 %, bei 0,5 mM PCMBs von 15 - 25 % nach (35)). Cystein soll die Wirkung der organischen Hg-Verbindungen wieder aufheben. Wie Garrahan und Rega in ihrer Arbeit (35) zeigen konnten, wird nach Inkubation der roten Blutkörperchen in cysteinhaltiger Lösung die normale Erythrocytenpermeabilität sowie der aktive Na^+/K^+ -Transport (allerdings erst nach längerer Cysteinexposition) wiedererlangt. Ob und inwieweit dabei auch ouabain-insensible Transportmechanismen durch die PCMBs-Einwirkung verändert oder sogar geschädigt werden, ist unseres Wissens bisher nicht untersucht.

Bei der Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Versuchsmethode zeigte sich in unseren Experimenten eine beachtliche intraindividuelle Varianz von 30% (3.1.7.).

Die Streuung innerhalb der einzelnen Kollektive lag noch wesentlich höher. Das Na^+/K^+ -Fluxverhältnis in den Hypertoniekollektiven (essentielle und sekundäre Hypertonie) streute mit 53% und 65% (Tab. 3 und Abb. 14), im Normalkollektiv N- sogar mit 69%. Die exakte Beurteilung von Versuchsergebnissen war damit nicht mehr möglich.

In Garay's Versuchsmethode zur Bestimmung der Na^+/K^+ -Fluxquotienten wurde kein g-Strophantin verwendet. Dies bedeutet, daß die jeweils gemessenen Kationenfluxe das Ergebnis der Ionenbewegungen der bisher bekannten Transportmechanismen (Na^+/K^+ -Pumpe, ouabain-insensible Transportsysteme einschließlich der passiven Membranpermeabilität darstellen. Hierbei nimmt, wie bereits eingangs erwähnt (20, 42, 47) der aktive Ionentransport über die g-Strophantin-hemmbar Na^+/K^+ -Pumpe den größten Anteil mit ca. 60 - 70 % ein.

Garay et al. (27), die bei essentiellen Hypertonikern und Normotonen mit familiärer Hochdruckbelastung einen gesteigerten Netto- K^+ -Influx gemessen hatten interpretierten diesen als Anpassungsmechanismus der Na^+/K^+ -Pumpe an einen möglicherweise erhöhten Na^+ -Einstrom bei defektem Na^+/K^+ -Cotransport.

Dies würde bedeuten, daß bei Patienten mit essentieller Hypertonie und Gesunden mit familiärer Anlage zur Hochdruckerkrankung ein gesteigerter aktiver Kationentransport zu finden sein müßte, den man entweder über eine Enzymaktivitätssteigerung der (Na^+/K^+) -ATPase oder über eine Zunahme der Enzymmoleküle (= Glykosidbindungsstellen) verifizieren könnte. Eine Erhöhung der Enzymaktivität konnte weder von Erdmann et al. (19), noch von Walter und Distler (62) oder Postnov (53) bei diesem Krankheitsbild nachgewiesen werden. Die von Wambach et

al. (63) gemessene Aktivitätszunahme der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase von Hypertoniepatienten wurde von Walter und Distler (62) auf die unterschiedliche Präparationstechnik zurückgeführt, da Wambach's Untersuchungen an Erythrocytenghosts vorgenommen worden waren. Diese Untersuchungen sind schwierig zu interpretieren. In unseren Bestimmungen der Glykosidrezeptoren an intakten roten Blutkörperchen ergab sich keine Zunahme der ^3H -Ouabainbindungsstellen bei den Hochdruckpatienten. Damit korrelieren unsere Ergebnisse mit früheren Untersuchungen von Erdmann et al. (19) und auch mit früheren Angaben von Garay (31). Erwartungsgemäß ergab sich auch in unseren Na^+ - K^+ -Fluxmessungen kein gesteigerter Netto- K^+ -Influx bei essentiellen Hypertonikern.

Erdmann et al. (19) hatten bereits 1980 gezeigt, daß kein Unterschied in der ^{86}Rb -Aufnahme zwischen unbehandelten Hochdruckpatienten und gesunden Kontrollpersonen besteht. Gless (37), der an den Erythrocyten von 10 Normotensiven und 10 unbehandelten essentiellen Hypertonikern den aktiven Kaliumtransport auch als ouabainhemmbaren K^+ -Influx gemessen hatte, fand ebenfalls keine erhöhten Parameter bei den Hochdruckpatienten.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß ein unveränderter K^+ -Influx, eine normale $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase-Aktivität und die gleichbleibende Anzahl der Glykosidbindungsstellen gegen eine Veränderung des aktiven Na^+/K^+ -Transports bei unbehandelter essentieller Hypertonie sprechen.

Um der Frage nachzugehen, ob ein anderes Transportsystem bei dieser Hochdruckerkrankung verändert sein könnte, untersuchten wir den Na^+ - Li^+ -Gegentransport,

von dem Canessa et al. (5) über einen um mehr als das Doppelte erhöhten Transport berichtet hatten. Die Bestätigung dieser Ergebnisse würde somit die Möglichkeit bieten, mit Hilfe einer nicht invasiven Untersuchung eine essentielle Hypertonie zu diagnostizieren.

Der von uns bestimmte Na^+ - Li^+ -Gegentransport im gesunden Vergleichskollektiv N- entsprach mit $0,29 \pm 0,02$ S.E.M. mmol/l/h weitgehend Canessa's Wert ($0,24 \pm 0,02$ S.E.M. mmol/l/h). Jedoch verhielten sich bei uns die essentiellen Hypertoniker in ihren Na^+ - Li^+ -Gegentransport-raten nicht unterschiedlich zum Normalkollektiv N- ($p > 0,5$).

Auch unter den Gesunden mit familiärer Anlage zur Hypertonie fanden wir keine Abweichung zum Normalkollektiv (N-). Entgegen Canessa's Darstellung mit klarer Abgrenzung der Normotonen von den essentiellen Hypertonikern findet sich bei uns eine weitgehende Überlappung beider Kollektive.

Die Arbeitsgruppe von Ibsen et al. (43) konnte Canessa's Resultate nur zum Teil bestätigen. Sie fand zwar einen erhöhten Na^+ - Li^+ -Gegentransport bei männlichen, essentiellen Hypertonikern, bei den weiblichen Patienten dagegen bestand ein normaler Na^+ -abhängiger Lithium-Efflux. Auch Kinder mit bekannter familiärer Hochdrucksposition zeigten einen unveränderten Gegentransport.

Duhm (10, 11, 12), der bereits 1976 den Na^+ -abhängigen Lithiumtransport genauer charakterisierte, hatte 1981 neben dem Na^+ - K^+ -Cotransport auch das Na^+ - Li^+ -Gegentransportsystem an 18 essentiellen Hypertonikern und 38 gesunden, normotensiven Kontrollpersonen untersucht und die phloretin-sensible Lithiumaufnahme in MgCl_2 -Medium gemessen. Dabei korrelierten die mit diesem Test bestimmten Li^+ -Aufnahmeraten eng ($r = 0.93$) mit den nach

der Canessa Methode ermittelten Li^+ -Effluxwerten. Auch hier war die Transportaktivität bei den Frauen niedriger als bei den Männern, wenn auch nur geringfügig. Eine Steigerung des Na^+ - Li^+ -Gegentransportsystems bei essentieller Hypertonie wurde von Duhm übereinstimmend mit unseren Ergebnissen, nicht festgestellt.

Beide Autoren (Duhm und Ibsen) berichten in ihren Arbeiten über eine beachtliche interindividuelle Streuung, die auch wir in unseren Untersuchungen beobachten konnten. Sehr wahrscheinlich dürfte dies im Zusammenhang mit der interindividuellen Schwankung der Transportkapazität in den Erythrocyten zu sehen sein, wie dies von Duhm et al. (13) bereits 1977 ausgeführt wurde. Änderungen im Na^+ - Li^+ -Gegentransport ergeben sich auch bei diuretikainduzierter Hypokaliämie, wie dies im nächsten Abschnitt noch ausführlicher beschrieben wird. Da Diuretika in der Hochdrucktherapie sehr häufig angewandt werden, erwies es sich in unseren Untersuchungen als schwierig, unbehandelte Hypertoniepatienten zu finden. In einem Zeitraum von mehr als einem Jahr suchten nur insgesamt sechs unbehandelte Hypertoniepatienten unsere Klinik auf, alle übrigen hatten bereits Antihypertensiva vorwiegend in Kombination mit Diuretika eingenommen. Bei einer durchschnittlichen Erythrocytenlebensdauer von 120 Tagen müßte, um einen Einfluß der Medikamente auf die Untersuchungen sicher auszuschließen, die Einnahme für diesen Zeitraum unterbrochen werden, was jedoch ärztlicherseits bei therapiebedürftigen Patienten nicht zu verantworten wäre.

Zusammenfassend läßt sich anhand unserer Resultate und den oben ausgeführten Überlegungen die Versuchsmethode nach Canessa et al. (5) als Routinescreening in der Hochdruckdiagnostik unseres Erachtens nicht anwenden.

Interessanterweise entdeckten wir jedoch in unseren Experimenten gesteigerte Kationenfluxe in den Erythrocyten von Patienten, die aufgrund eines Diuretika- und/oder Laxantienabusus eine Hypokaliämie entwickelt hatten. Hochdruckpatienten, die unter diuretischer Behandlung niedrige Serumkaliumspiegel bekommen hatten, zeigten die gleichen Veränderungen.

Beide Gruppen fielen durch einen signifikant gesteigerten K^+ -Influx in der nach Garay et al. (28) angewandten Versuchsmethode und durch eine erhöhte Glykosidrezeptorenanzahl (Bestimmungsmethode nach Erdmann et al. (20) auf.

Eine Zunahme der 3H -Ouabainbindungsstellen und der ^{86}Rb -Aufnahme an den Erythrocyten von Hypokaliämiepatienten wurde schon früher (Erdmann und Krawietz 1979, und Erdmann et al. 1980) berichtet. Offensichtlich wird die Synthese der Na^+/K^+ -Pumpmoleküle durch ein niedriges extrazelluläres Kalium während der Erythropoese stimuliert. Somit bleibt eine normale intrazelluläre Konzentration dieses Kations aufrechterhalten, obwohl das Serumkalium erniedrigt ist (siehe auch Tab. 2 und Bolte et al. (4)). Dieser wahrscheinliche Anpassungsmechanismus des aktiven Transportsystems an Elektrolytstörungen kann durch unsere Versuchsergebnisse bestätigt werden.

Zusätzlich fanden wir in unseren Experimenten, daß diuretikabedingte Elektrolytstörungen nicht nur das aktive Transportsystem, sondern auch das g-Strophantin-unabhängige Na^+-Li^+ -Gegentransportsystem beeinflussen. Wir konnten neben einem gesteigerten K^+ -Influx und einer erhöhten Anzahl von Glykosidbindungsstellen einen auffallend hohen natriumabhängigen Li^+ -Efflux und damit einen deutlich gesteigerten Na^+-Li^+ -Gegentransport an den Erythrocyten der Hypokaliämiepatienten und der Hy-

pertoniepatienten mit diuretika-induzierter Hypokaliämie nachweisen. Zwei Patienten, die kaliumsparende Diuretika (Spironolacton) einnahmen, hatten einen normalen Na^+ - Li^+ -Gegentransport und keine vermehrten Glykosidrezeptoren. Auch die dreiwöchige Einnahme eines diuretisch wirkenden Kombinationspräparates (Spironolacton/Hydrochlorothiazid) führte zu keinen meßbaren Veränderungen des Na^+ - Li^+ -Gegentransports und des aktiven Ionen-transportes (K^+ -Influx, Glykosidrezeptoren). Die Serumkaliumwerte der Versuchspersonen waren während dieser drei Wochen jeweils im Normbereich gemessen worden.

Diese Untersuchungen deuten daraufhin, daß es über eine Hypokaliämie auch zu einer Steigerung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports kommen könnte. Eine Verbindung von Na^+ - Li^+ -Gegentransport und aktivem Na^+ - K^+ -Transport ist bisher nicht bekannt, doch wäre eine direkte oder indirekte Beziehung beider Transportsysteme denkbar. Interessante Ergebnisse über Änderungen des Na^+ - Li^+ -Gegentransportsystems wurden kürzlich von Worley et al. (71) veröffentlicht. Seine Arbeitsgruppe konnte bei normotonen wie bei hypertonen schwangeren Frauen einen erhöhten Na^+ - Li^+ -Gegentransport feststellen, die sich dadurch deutlich von den normotonen und hypertonen Nichtschwangeren unterschieden. 80 Tage nach der Geburt fand er signifikant rückläufige Transportraten, was für eine endokrine Beeinflussung des Na^+ - Li^+ -Gegentransportsystems während der Erythropoese sprechen könnte.

Somit würden unsere Untersuchungsergebnisse (Zunahme des Na^+ - Li^+ -Gegentransports bei Hypokaliämie) sowie auch diejenigen von Worley (Änderung des Na^+ - Li^+ -Gegentransports während der Gravidität) gegen das von Canessa (5, 6) und Garay (26) vermutete genetisch determinierte Transportsystem sprechen. Ein wichtiger Schritt

zur näheren Charakterisierung dieses Transportsystems wird deshalb die quantitative Erfassung der Ionenbindungsstellen und der Enzymaktivität des Carrierproteins für den Na^+ - Li^+ -Gegentransport sein, was bislang beides noch nicht möglich ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Seit längerem sind bei verschiedenen Erkrankungen, wie z. B. Thalassämie, Sphärocytose oder Bartter's Syndrom Defekte im zellulären Elektrolyttransport bekannt. Erhöhte intraerythrocytäre Na^+ -Konzentrationen sowie ein vermehrter Einstrom von markiertem Natrium in die Erythrocyten von essentiellen Hypertonikern, wie von Losse et al. (46) und Wessels et al. (67) berichtet, lassen auch bei dieser Erkrankung an eine mögliche Kationentransportstörung denken.

Untersuchungen von Garay und Meyer (27, 28), die eine neue Methode zur Fluxmessung an Erythrocyten entwickelt hatten, ergaben abnorme Na^+ - und K^+ -Fluxe bei Patienten mit essentieller Hypertonie. Sie beobachteten an natriumbeladenen und kaliumarmen roten Blutkörperchen dieser Patientengruppe eine Zunahme des KaliumEinstroms und eine Reduktion des Na^+/K^+ -Fluxquotienten, was bei Patienten mit Hochdruckformen renaler Genese nicht nachweisbar war.

Hinweise für einen gesteigerten aktiven Ionentransport über die g-Strophantin-abhängige Na^+/K^+ -Pumpe in Zusammenhang mit essentieller Hypertonie sahen Wambach et al. (63) in ihren 1979 veröffentlichten Ergebnissen, die eine Zunahme der $(\text{Na}^+/\text{K}^+)\text{ATPase}$ -Aktivität in Erythrocytenghost von essentiellen Hypertoniepatienten fanden. Erdmann et al. (19) konnten diese Resultate nicht bestätigen, fanden aber eine gesteigerte Enzymaktivität der $(\text{Na}^+/\text{K}^+)\text{ATPase}$ und eine Zunahme der Glykosidrezeptoren (= Pumpmoleküle) in den Erythrocyten jener Patienten, die aufgrund eines Diuretika- und/oder

Laxantienabusus in eine chronische Hypokaliämie geraten waren.

Über Veränderungen im g-Strophantin-unabhängigen Na^+ -Transport berichteten 1980 Canessa et al. (5). Sie fanden in den Erythrocyten von essentiellen Hypertonikern einen um das 2 - 3fache gesteigerten Na^+ - Li^+ -Gegentransport gegenüber den Normotensiven, die sich angeblich ohne Überlappung von den Hochdruckkranken abgrenzen ließen.

Da offensichtlich von den verschiedenen Autoren verschiedene Parameter untersucht wurden, entstanden daraus auch die unterschiedlichen Schlußfolgerungen. Wir beabsichtigten daher in unserer Arbeit, in der wir an denselben Versuchspersonen (Normotone mit und ohne familiäre Hochdruckbelastung, essentielle Hypertoniker, sekundäre Hypertoniker und Hypokaliämiepatienten) gleichzeitig die Na^+/K^+ -Fluxe (nach der Methode von Garay (28)), die Anzahl der Glykosidrezeptoren (nach der Methode von Erdmann (20)) und den Na^+ - Li^+ -Gegentransport (nach der Methode von Canessa (5)) bestimmten, Änderungen in den Ionentransportsystemen der Erythrocytenmembran bei Hochdruckerkrankungen und Elektrolytstörungen qualitativ zu erfassen.

Ergebnisse

Wir fanden keine auffallende Differenz im Na^+ - und K^+ -Gehalt der Erythrocyten von essentiellen und sekundären Hypertonikern zu den gesunden Kontrollpersonen. Bei den Hypokaliämiepatienten fiel eine signifikant erniedrigte intraerythrocytäre Na^+ -Konzentration auf ($p < 0,007$), die K^+ -Konzentration dagegen entsprach derjenigen in den übrigen Kollektiven (Tab. 2 und 6).

Na⁺- und K⁺-Fluxmessung:

Entgegen Garay und Meyer's Arbeiten (28) ließ sich in unseren Messungen kein Unterschied zwischen essentiellen Hypertonikern und normotensiven Kontrollpersonen in den Na⁺- und K⁺-Fluxen sowie Na⁺/K⁺-Fluxquotienten feststellen. Auch konnten wir keine veränderten Rationenfluxe bei den Normotonen mit familiärer Hochdruckbelastung finden. Eine Unterteilung der beiden Hypertoniekollektive nach Medikation, Nierenfunktion und z.n. Nierentransplantation ergab keine Änderung der Resultate.

Lediglich die Gruppe der Hypokaliämiepatienten zeigte mit erheblich erniedrigten Na⁺/K⁺-Fluxquotienten, die auf einen hohen K⁺-Influx zurückzuführen waren, eine signifikante Abweichung zum Normalkollektiv N-. Niedrige Na⁺/K⁺-Fluxquotienten und hoher Netto-K⁺-Influx fiel auch bei den unter diuretischer Therapie hypokaliämisch gewordenen sekundären Hypertonikern auf (Tab. 4).

Na⁺-Li⁺-Gegentransport:

Entsprechend Tabelle 7, die die Durchschnittswerte für den natriumabhängigen Li⁺-Efflux und den Na⁺-Li⁺-Gegentransport enthält, ließ sich kein um das Doppelte gesteigerter Na⁺-Li⁺-Gegentransport bei den essentiellen Hypertonikern finden. Eine Ausnahme bildeten die Erythrocyten der Hypokaliämiepatienten, ihr Na⁺-Li⁺-Gegentransport lag mit $p < 0,002$ signifikant höher als in allen anderen Gruppen. Eine Differenzierung der Hypertoniepatienten nach Medikation (insbesondere Diuretika) und Serumkaliumspiegel zeigte eindeutig, daß Saluretika-einnahme plus erniedrigtes Serumkalium ($< 3,7 \text{ mval/l}$)

mit einer Steigerung des Na^+ - Li^+ -Gegentransportes in den Erythrocyten einhergehen.

Glykosidrezeptoren:

Mit der Bestimmung der ^3H -Ouabainbindungsstellen, welche die Anzahl der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{ATPase}$ Moleküle darstellen (17, 19), sollten mögliche Änderungen im aktiven Transportsystem erfaßt werden. Eine Zunahme der Glykosidrezeptoren war weder bei den essentiellen noch den sekundären Hypertoniepatienten gegenüber dem Normalkollektiv nachzuweisen. Jedoch auch hier hatte die Gruppe der Hypokaliämiepatienten im Durchschnitt höhere ^3H -Ouabainbindungsstellen, was Erdmann und Krawietz schon 1977 und 1980 berichteten (20, 21).

Insgesamt ließ sich anhand unserer experimentellen Bestimmungen der Na^+ - K^+ -Fluxe, des Na^+ - Li^+ -Gegentransportes und der Glykosidrezeptoren an den Erythrocyten essentieller Hypertoniker kein Unterschied zu den gesunden Vergleichspersonen (N-) nachweisen. Somit sind die Arbeiten von Canessa et al. (5) und Garay und Meyer (27, 28) unsererseits nicht zu bestätigen. Da wir weder einen gesteigerten K^+ -Influx noch eine Zunahme der Glykosidrezeptoren bei essentiellen Hypertonikern finden konnten, halten wir eine Störung des aktiven Transportsystems bei diesem Krankheitsbild für unwahrscheinlich.

Wir fanden jedoch interessante Ergebnisse bei diuretika-induzierter Hypokaliämie. Diese Patientengruppe fiel durch einen signifikant gesteigerten K^+ -Influx, einen hohen Na^+ - Li^+ -Gegentransport und eine deutliche Zunahme der Glykosidbindungsstellen an den Erythrocyten auf. Die dreiwöchige Einnahme eines kaliumsparenden Diureti-

kums ohne Änderung des Serumkaliums, zeigte keinen Einfluß auf die Untersuchungsergebnisse.

Offensichtlich stimuliert ein erniedrigtes extrazelluläres Kalium die de novo Synthese der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{ATPase}$ -Moleküle während der Erythropoese, um mittels einer Kapazitätssteigerung des aktiven Transportsystems die intrazelluläre Kaliumkonzentration aufrechtzuerhalten, wie dies bereits 1979 von Erdmann et al. (20) diskutiert wurde. Nach unseren Ergebnissen wäre eine ähnliche Regulation auch für das $\text{Na}^+ - \text{Li}^+$ -Gegentransportsystem möglich. Über eine direkte oder indirekte Beziehung beider Transportsysteme ist jedoch bislang nichts bekannt. Ein wichtiger Schritt wäre deshalb die quantitative Erfassung der Ionenbindungsstellen und der Enzymaktivität des Carrierproteins, um das $\text{Na}^+ - \text{Li}^+$ -Gegentransportsystem näher zu charakterisieren, was unseres Wissens noch nicht möglich ist.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bartter F.C.: Bartter's Syndrome: A Disorder of Vascular Reactivity. Hypertension 3 (1981) I-69 - I-73
2. Beaugé L.: Non-pumped Sodium Fluxes in Human Red Blood Cells, Evidence For Facilitated Diffusion. Biochimica et Biophysica Acta 401 (1975) 95 - 108
3. Blaustein M.P.: Sodium Ions, Calcium Ions, Blood-pressure Regulation, and Hypertension: A Reassessment and a Hypothesis. Am. J. Physiol. 232 (1977) 165 - 173
4. Bolte H.-D., Lüderitz B., Erdmann E. und Steinbeck G.: Zellwasser, Zellkalium- und -Natrium von Herz- und Skelettmuskulatur im chronischen Kaliummangel. Verh. dt. Ges. inn. Med. 78 (1972) 1052 - 1056
5. Canessa M., Adragna N., Solomon H.S., Conolly Th.M. and Tosteson D.C.: Increased Sodium-Lithium-Countertransport in Red Cells of Patients With Essential Hypertension. New Engl. J. Med. 302 (1980) 772 - 776
6. Canessa M., Adragna N., Bize I., Conolly Th.M., Solomon H., Williams G., Slater E. and Tosteson D.C.: Ouabain-Insensitive Cation Transport in the Red Cells of Normotensive and Hypertensive Subjects. I. Intern. Symp. Münster. Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension. By Zunkley H. and Losse H., Georg Thieme Verlag, S. 239 - 250

7. Chan P.C. and Sanslone W.R.: The Influence of a Low Potassium Diet on Rat-Erythrocyte-Membrane Adenosine Triphosphatase. Arch. Biochem. Biophys. 134 (1969) 48 - 52
8. Dahl L.K. and Love R.: Etiological Role of Sodium Chloride Intake in Essential Hypertension in Humans. J. Amer. Med. Ass. 164 (1957) 397 - 400
9. Duhm J., Eisenried F., Becker B. and Greil W.: Studies on the Li^+ Transport Across the Red Cell Membrane. I Li^+ -Uphill Transport by the Na^+ -Dependent Li^+ -Counter-Transport System of Human Erythrocytes. Pflügers Arch. 364 (1976) 147 - 155
10. Duhm J. et al.: Ein einfacher Test zur Bestimmung des Na^+ - K^+ -Kotransportes und des Na^+ - Li^+ -Gegen-transportes an Menschenerythrocyten: Erste Ergebnisse bei Patienten mit essentieller Hypertonie. Therapie Woche 47 (1981) 7759
11. Duhm J. et al.: Sodium-Lithium Exchange and Sodium Potassium Cotransport in Human Erythrocytes Part 1: Evaluation of a Simple Uptake Test to Assess the Activity of the Two Systems. Hypertension 4 (1982) 468 - 476
12. Duhm J. et al.: Sodium-Lithium Exchange and Sodium Potassium Cotransport in Human Erythrocytes Part 2: A Simple Uptake Test Applied to Normotensive and Essential Hypertensive Individuals. Hypertension 4 (1982) 477 - 482

13. Duhm J., Becker B.: Studies on the Lithium Transport Across the Red Cell Membrane IV. Interindividual Variations in the Na^+ -Dependent Li^+ -Countertransport System of Human Erythrocytes. Pflügers Arch. 370 (1977) 211 - 219
14. Dunn M.J.: The Effects of Transport Inhibitors on Sodium Outflux and Influx in Red Blood Cells: Evidence for Exchange Diffusion. J. Clin. Invest. 49 (1970) 1804 - 1814
15. Dunn M.J.: Ouabain-uninhibited Sodium transport in Human Erythrocytes. Evidence Against a Second Pump. J. Clin. Invest. 52 (1973) 658 - 670
16. Erdmann E. and Schoner W.: Ouabain-Receptor Interactions in $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -ATPase Preparations from Different Tissues and Species. Determinations of Kinetic Constants and Dissociation Constants. Biochem. Biophys. Acta 307 (1973) 386 - 398
17. Erdmann E., Hasse W.: Quantitative Aspects of Ouabain Binding to Human Erythrocytes and Cardiac Membranes. J. Physiol. 251 (1975) 671 - 682
18. Erdmann E., Schoner W.: Korrelation der Bindung von Herzglykosiden an ihren Rezeptor und der Hemmung der $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$ -aktivierbaren ATPase - klinische Bedeutung und Anwendungsmöglichkeit. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 80 (1974) 1075 - 1077

19. Erdmann E., Werdan K., Hegelberger R., Pruchniewski M., Christl St.: Determination of the Number of ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase Molecules, their Enzymatic Activity and the Active Na^+/K^+ -Transport of Human Erythrocytes in Hypokalaemia and in Hypertension. I. Intern. Symp. Münster. Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension. By Zunkley H. and Losse H. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York pp. 164 - 170
20. Erdmann E., Krawietz W., Koch M.: Cardiac Glycoside Receptors in Disease: The Number of Ouabain Binding Sites in Human Erythrocytes is Subject to Regulation. In: Na, K-ATPase, Structure and Kinetics. Ed. by Skou J. G., Academic Press London (1979) 517 - 524
21. Erdmann E., Krawietz W.: Increased Number of ouabain Binding Sites in Human Erythrocyte Membranes in Chronic Hypokalaemia. Acta Biol. Med. Germ. Band 36 (1977) 879 - 883
22. Funder J., Tosteson D.C. and Wieth J.O.: Effects of Bicarbonate on Li^+ -Transport in Human Red Cells. J. Gen. Physiol. 71 (1978) 721 - 746
23. Gall G., Vaitukaitis J., Haddow J.E. and Klein R.: Erythrocyte Na Flux in a Patient with Bartter's Syndrome. J. Clin. Endocr. 32 (1971) 562 - 567
24. Garay R.P., Garrahan P.J.: The Interaction of Sodium and Potassium With the Sodium Pump in Red Cells. J. Physiol. 231 (1973) 297 - 325

25. Garay R.P., Adragna N., Canessa M., Tosteson D.C.: Outward Sodium and Potassium Cotransport in Human Red Cells. *J. Membrane Biol.* 62 (1981) 169 - 174
26. Garay R.P., Dagher G., Pernollet M.G., Devynck M.A., Meyer P.: Inherited Defect in a Na^+/K^+ -Co-transport System in Erythrocytes from Essential Hypertensive Patients. *Nature* Vol. 284 (1980) 281 - 283
27. Garay R.P., Meyer P.: A New Test Showing Abnormal Net Na^+ - and K^+ -Fluxes in Erythrocytes of Essential Hypertensive Patients. *Lancet* 1 (1979) 349 - 353
28. Garay R.P., Elghozi J.L., Dagher G., Meyer P.: Laboratory Distinction Between Essential and Secondary Hypertension By Measurement of Erythrocyte Cation Fluxes. *New. Engl. J. Med.* 302 (1980) 769 - 771
29. Garay R.P., Dagher G.: A Na^+ , K^+ -Cotransport Assay for Essential Hypertension. *Can. J. Biochem.* Vol. 58 (1980) 1069 - 1074
30. Garay R.P., Dagher G.: Erythrocyte Na^+ and K^+ Transport Systems in Essential Hypertension. I. Intern. Symp. Münster. Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension. By Zunkley H. and Losse H. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, pp. 69 - 76
31. Garay R.P. et al.: Clinical and Pathological Relevance of Erythrocyte Cation Fluxes Measurement in Hypertension. *Clin. Science* 57 (1979) 329 - 331

32. Gardener J.D., Kiino D.R.: Ouabain Binding and Cation Transport in Human Erythrocytes. J. Clin. Invest. 52 (1973) 1845 - 1851
33. Gardener J.D., Simopoulos A., Lapey A., Shibolet S.: Altered Sodium Membrane Transport in Bartters' Syndrome. J. Clin. Invest. 51 (1972) 1565 - 1571
34. Garrahan P., Glynn I.: The Sensitivity of the Sodium Pump to external Sodium. J. Physiol. 192 (1967) 175 - 188
35. Garrahan P., Rega A.: Cation Loading of Red Blood Cells. J. Physiol. 193 (1967) 459 - 466
36. Gill J.R., Bartter F.C.: Evidence for a Prostaglandin-independent Defect in Chloride Reabsorption in the Loop of Henle as a proximal cause of Bartter's Syndrome. Am. J. Med. 65 (1978) 766
37. Gless K.-H.: Furosemid- und Ouabain-hemmbarer Kationentransport an Erythrocyten bei Patienten mit essentieller Hypertonie. Therapie Woche 47 (1981) 7771 - 7771
38. Glynn J.M.: Sodium and Potassium Movements in Human Red Cells J. Gen. Physiol. 134 (1956) 278 - 310
39. Gross F., Schmidt H.: Arch. exper. Path. Pharmacol. 233 (1958) 311
40. Haas M., Schooler J., Tosteson D.: Coupling of Lithium to Sodiumtransport in Human Red Cells. Nature Vol. 258 (1975) 425 - 427

41. Hoffmann J., Kregenow F.M.: The Characterization of New Energy-dependent Cation Transport Processes in Red Blood Cells. Ann. New York Acad. Sc. 137 (1966) 566 - 576
42. Hoffmann J.: The Red Cell Membrane and the Transport of Na^+ and K^+ . Am. J. Med. 41 (1966) 666 - 680
43. Ibsen et al.: Essential Hypertension: Sodium-Lithium-Countertransport in Erythrocytes from Patients and from Children Having One Hypertensive Parent. Hypertension: 4 (1982) 703 - 709
44. Jacob H.S.: Abnormalities in the Physiology of the Erythrocyte Membrane in Hereditary Spherocytosis. Am. J. Med. 41 (1966) 734 - 743
45. Lauf P.K. and Joiner C.H.: Increased Potassium Transport and Ouabain Binding in Human Rh_{null} Red Blood Cells. Blood. 48 (1976) 457 - 468
46. Losse H., Wehmeyer H. und Wessels F.: Der Wasser- und Elektrolytgehalt von Erythrocyten bei arterieller Hypertonie. Klin. Wochenschrift 38 (1960) 393 - 395
47. Lubowitz H., Whittham R.: Ion Movements in Human Red Cells Independent of the Sodium Pump. J. Physiol. 202 (1969) 111 - 131
48. Mendels J., Frazer A.: Alterations in Cell Membrane Activity in Depression. Am. J. Physiol. 131 (1974) 1240 - 1246

49. Nathan D.G., Gunn R.B.: Thalassaemia : the Consequences of Unbalanced Hemoglobin Synthesis. Am. J. Med. 41 (1966) 815 - 830
50. Owen J.S., Mc Intyre N.: Erythrocyte Lipid Composition and Sodium Transport in Human Liver Disease. Biochem. Biophys. Acta 510 (1978) 168 - 176
51. Pandey G.N., Sarkadi B., Haas M., Gunn R.B., Davis J.M., Tosteson D.C.: Lithium Transport Pathways in Human Red Blood Cells. J. Gen. Physiol. Vol. 72 (1978) 233 - 247
52. Parker J.C., Welt L.G.: Pathological Alterations of Cation Movements in Red Blood Cells. Arch. Intern. Med. 129 (1972) 320 - 332
53. Postnov Y.V., Orlov S.N., Shevchenko A., Adler A.M.: Altered Sodium Permeability, Calcium Binding and Na^+/K^+ -ATPase Activity in the Red Blood Cell Membrane in Essential Hypertension. Pflügers Arch. 371 (1977) 263 - 269
54. Sachs J.R.: Ouabain Insensitive Sodium Movements in The Human Red Blood Cell. J. Gen. Physiol. 57 (1971) 259 - 282
55. Sarkadi B., Alifimoff J.K., Gunn R.B., Tosteson D.C.: Kinetics and Stoichiometry of Na^+ -Dependant Li^+ -Transport in Human Red Cells. J. Gen. Physiol. Vol. 72 (1978) 249 - 265

56. Schatzmann H.J.: Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven K^+ und Na^+ Transport durch die Erythrocytenmembran. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta* 11 (1953) 346 - 354
57. Sen A.K., Post R.C.: Stoichiometry Localization of Adenosine-Triphosphate-Dependant Sodium and Potassium Transport in the Erythrocyte. *J. Biol. Chem.* 239 (1964) 345 - 352
58. Skou J. C.: Enzymatic Basis For Active Transport of Na^+ and K^+ Across Cell Membrane. *Physiol. Rev.* 45 (1965) 596 - 617
59. Sweadner and Goldwin: Active Transport of Sodium and Potassium Ions. *New Engl. J. Med.* 302 (1980) 777 - 783
60. Sutherland R.M., Rothstein A., Weed R.J.: Erythrocyte Membrane Sulfhydryl Groups and Cation Permeability. *J. Cell. Physiol.* 69 (1967) 185 - 198
61. Ussing H.H.: The Alkali Metal Ions in Biology. In: *Handbuch der Experimentellen Pharmakologie* Vol. 13 Springer Verlag, Berlin (1960) 45 - 60
62. Walter U., Distler A.: Effects of Oubain and Furosemide on ATPase-Activity and Sodium Transport in Erythrocytes of Normotensives and of Patients with Essential Hypertension. I. Intern. Symp. Münster. Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension. Ed. by Zumkley H., Losse H. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York pp. 170 - 181

63. Wambach G., Heller A., Bönner G., Hummerich W.: Natrium-Kalium-ATPase Aktivität in Erythrocytenghost und Elektrolytkonzentrationen in Erythrocyten von Patienten mit essentieller Hypertonie. Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 84 (1978) 800 - 803
64. Welt L.G.: An Ion Transport Defect in Erythrocytes from Uremic Patients. Transactions of the Assoc. of Americ. Physicians. 77 (1964) 160 - 181
65. Welt L.G., Smith E.K.M., Dunn M.J. et al.: Membrane Transport Defect: The sick Cell. Trans. Assoc. Americ. Phys. 80 (1967) 217 - 226
66. Wessels F., Losse H., Zunkley H.: Untersuchungen über den Na^+ -Gehalt der Erythrocyten bei Normo- und Hypertonikern mit fam. Hochdruckbelastung. Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforschung 32 (1966) 309 - 312
67. Wessels F., Jung-Hülsing G., Losse H.: Untersuchungen zur Natriumpermeabilität der Erythrocyten bei Hypertonikern und Normotonikern mit fam. Hochdruckbelastung. Zeitschrift f. Kreislaufforschg. 56 (1967) 374 - 380
68. Wessels F., Zunkley H.: Sodium Metabolism of RBC in Hypertensive Patients. I. Intern. Symp. Münster. Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension. Ed. by Zunkley H. and Losse H. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, pp. 59 - 68

69. Wessels F.: Genetic Aspects of Sodium Metabolism in RBC. I. Intern. Symp. Münster. Intracellular Electrolytes and Arterial Hypertension. Ed. by Zumkley H. and Losse H. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, pp. 221 - 227
70. Wiley J.S., Cooper R.A.: A Furosemide-Sensitive Co-transport of Sodium Plus Potassium in the Human Red Cell. J. Clin. Invest. 53 (1974) 745 - 755
71. Worley R. et al.: Increased Sodium-Lithium Counter-transport in Erythrocytes of Pregnant Women. New Engl. J. Med. 307 (1982) 412 - 416
72. Woods J.W., Parker J.C., Watson B.S.: Perturbation of Sodium-Lithium Countertransport in Red Cells. New Engl. J. Med. 308 (1983) 1258 - 1261

Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
DIDS	4,4-diisothiocyano-stilben 2,2-disulfonsäure
DOCA	Desoxycorticosteronacetat
E.H.	essentielle Hypertonie
GN	Glomerulonephritis
Hepes	N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-ethansulfonsäure
HK	Hämatokrit
HI	Herzinsuffizienz
$(K^+)_{\text{a}}$	extrazelluläre Kaliumkonzentration
KHK	koronare Herzerkrankung
LE	Lupus erythematodes
Mops	(3-(N-Morpholino)propanesulfonic acid)
N+	Normoton mit familiärer Hochdruckbelastung
N-	Normoton ohne familiäre Hochdruckbelastung
$(Na^+)_{\text{a}}$	extrazelluläre Natriumkonzentration
NAS	Nierenarterienstenose
NT	Nierentransplantation
PCMBs	2,5,-p-chloromercuribenzenesulphonate
S.D.	Standard deviation
S.E.M.	Standard error of the mean
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Tu	Tumor

LEBENS LAUF

Geboren wurde ich am 27. Dezember 1951 in Wasserburg am Inn als Tochter der Eheleute Friedrich und Ursula Schmiedinger.

- | | |
|-----------|---|
| 1958-1962 | Volksschule in Wasserburg/Inn |
| 1962-1971 | Oberrealschule in Wasserburg/Inn |
| 1971 | Reifezeugnis am Luitpoldgymnasium Wasserburg |
| 1971-1978 | Medizinstudium in München an der Ludwig-Maximilians-Universität |
| 1978 | Staatsexamen und Approbation |
| 1979-1980 | Assistenzärztin auf der Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Weilheim/Obb. |
| 1980-1981 | Beginn der Promotion als studentische Hilfskraft an der Medizinischen Klinik I, Klinikum Großhadern München bei Herrn Priv. Doz. Dr. E. Erdmann |
| 1982-1984 | Wissenschaftliche Assistentin an der Medizinischen Klinik I, Klinikum Großhadern München;
Direktor: Prof. Dr. Gerhard Riecker |

